



Hinc patriam sustinet

Instituto Superior de Agronomia
Universidade Técnica de Lisboa

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS PARA QUEIJOS

Estudo de Caso: Queijos da Beira Interior

Cláudia Patrícia Martins Moreira

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar

Orientador: Professora Doutora Margarida Moldão Martins

Co-orientador: Engenheira Lúcia Maria Batista Calado Borges

Júri:

Presidente: Doutora Sara Maria Beirão da Costa Teixeira de Barros, Professora Auxiliar Convidada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor Vítor Manuel Delgado Alves, Investigador Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa.

Lisboa, 2011

Agradecimentos

Ao CITEVE Alimentar, em particular, à Engenheira Lígia Borges, pela disponibilidade e acolhimento, bem como, pela oportunidade em participar no desenvolvimento deste laboratório.

À Professora Doutora Margarida Moldão Martins pelo incentivo e apoio em aceitar este desafio mas, também, pelo auxílio no tratamento estatístico dos resultados e por toda a ajuda, disponibilidade e amizade demonstrada ao longo do trabalho e do curso.

A todos os colaboradores do CITEVE Alimentar que, directa ou indirectamente, colaboraram para a realização deste trabalho, com a disponibilização de informação e conhecimentos, particularmente, à Liliane, à Sónia e à Margarida.

À Engenheira Mara Pereira pela sua disponibilidade, conhecimento e simpatia na realização dos ensaios físicos do presente trabalho.

A todos os que participaram e colaboraram nas provas de análise sensorial.

À minha família, principalmente, aos meus pais, por me terem concedido esta oportunidade e por todo o apoio, carinho e amizade ao longo destes anos.

À tia Lurde pela disponibilidade, auxílio e apoio na organização e correcção do trabalho, bem como, pela amizade e acolhimento.

Um agradecimento muito especial ao André, por me ter acompanhado ao longo destes meses e durante o curso, por estar sempre presente quando mais precisei, pela paciência e, acima de tudo, pelo companheirismo e grande amizade que demonstra.

Resumo

O presente trabalho teve como principal objectivo o desenvolvimento de metodologias químicas, físicas e sensoriais num laboratório de análise de alimentos. Inicialmente, seleccionaram-se as metodologias a utilizar, de acordo com a legislação existente, e, posteriormente, testaram-se em queijos característicos da região da Beira Interior.

Desta forma, foi possível verificar se os métodos eram os adequados mas, também, fazer uma breve caracterização dos queijos e estabelecer as diferenças existentes entre as três marcas analisadas.

Os resultados obtidos demonstraram que os métodos são os adequados pois apresentam uma elevada reprodutibilidade, avaliada pelos valores de desvio padrão bastante reduzidos.

No que diz respeito às marcas analisadas, verifica-se que são bastante diferentes nos parâmetros químicos e físicos, quando comparadas entre si.

A análise sensorial e a sua relação aos parâmetros obtidos instrumentalmente demonstraram a necessidade de realizar este tipo de provas com um painel de provadores treinado, para que possa ser possível obter associações coerentes.

Pela análise multivariada aos parâmetros químicos e sensoriais foi possível concluir que os queijos nas três marcas são bastante homogéneos entre si, pois constituem e pertencem todos à mesma classe.

Palavras – chave: Metodologias analíticas; queijos da Beira Interior; composição físico-química; compostos voláteis; análise sensorial.

Abstract

The main objective of the present work is the development of chemical, physical and sensory methodologies in a food safety laboratory. The first step consisted in the selection of the methodologies to be used, in accordance with existing legislation. Subsequently, characteristic cheeses of the Beira Interior region were tested.

Accordingly, it was possible to verify the adequacy of the methodology used as well as to make a brief characterisation of the cheeses and to establish the differences between the three brands under analysis.

The results obtained have shown that the methods used were appropriate since they feature a high reproducibility, confirmed by the very low standard deviation values observed.

Regarding the trade brands analysed, we can conclude that, when compared, they present very different chemical and physical parameters.

The sensory analysis and its relationship to the parameters instrumentally obtained have shown the need to perform this type of tests with a panel of trained tasters, in order to obtain consistent associations.

The multivariate analysis of the chemical and sensory parameters allows us to conclude that the three brands of cheeses are quite homogeneous among themselves, since they constitute and belong to the same class.

Keywords: analytical methodologies; “Beira Interior” cheese; main composition; volatile compounds; sensory analysis.

Extended abstract

Food security is an increasingly expanding area, because consumers show a greater concern with the foodstuffs they purchase. Thus, producers, food manufacturing industries and retailers have to ensure the food wholesomeness and safety, both in chemical, physic and microbiological terms. This safety is maintained, through the selection of high quality raw materials and the performance of periodic control tests. In this context, the existence of food safety laboratories in those regions with a high presence in the food sector is very relevant.

The main objective of the present work is the development of chemical, physical and sensory methodologies in a food security laboratory.

The experimental work was developed in two phases: first, analytical methodologies were selected, and then they were tested in typical cheeses of the region of Beira Interior.

The analysis of the chemical parameters identified the cheeses as being low-acid (pH values near 6), salty (chlorides content exceeding 2%) hard and fatty since they have a moisture content below 51% and more than 40% fat, respectively. The heterogeneity between cheese and brands is explained by the variations inherent to the raw materials and the technological process, since methodologies feature a high reproducibility, leading to relatively low standard deviations.

Volatile compounds have been identified by SPME-GS-MS and belong to different chemical families, in particular, acids, alcohols, ketones, aldehydes, esters and hydrocarbons, and may have different origins.

In the objective analysis of the color operated by the CIE L * a * b *system, it was obtained that brand 2 is the more yellow (high b *) and brand 3 the clearest (value of L * upper).

As to the parameters of the texture, determined by analysis in a texturometer, significant differences between brands were found, being B3 the hardest associated with its low fat content.

The sensory analysis and its relationship to the parameters obtained instrumentally demonstrated the need to perform this type of evidence with a panel of trained, so that it can be possible to obtain consistent associations. However, it was possible to obtain consistent results in the case of the association of acidic taste with salty taste, pH with

the content of chlorides, sticky with the adhesiveness texture and buttery with the gummy texture.

With regard to multivariate analysis defined by sensory and chemical parameters, it appears that the first two major components explain 83.28% of the total variability. The variables that constitute the main components are pH, fat, buttery texture, taste intensity, for factor 1, and the content of chlorides, spicy taste and sticky texture for factor 2. This analysis, together with the *Cluster* analysis, has demonstrated that the three brands of cheese are very similar, since they all belong to the same class, but has also demonstrated the heterogeneity between the three brands of cheese under analysis.

Thus, brand 1 has registered the highest values for the parameters pH; adhesiveness, cohesiveness and elasticity; intensity of smell; fruity smell; foul smell and taste of stale; intensity of taste; spicy taste; and sticky texture.

Brand 2 has got higher levels of chlorides and fat; a * and b * chromatic coordinates and hue and saturation; color feature; rancid smell; salty taste; firm and grainy texture.

Brand 3 has got the highest levels for moisture content; lightness (L *); hardness, chewiness and gumminess; smell of sour milk; acid taste; and buttery texture.

However, the analysis of the results allows us to conclude that the methodologies have been properly developed because they present a good repeatability. In any case, it will be important to make inter-laboratory tests in order to validate the methodologies.

Índice

Agradecimentos.....	I
Resumo	II
Abstract	III
Extended abstract.....	IV
Índice de Tabelas	IX
Índice de Figuras	X
Lista de Abreviaturas	XII
1. Objectivo.....	1
2. Introdução.....	2
3. Enquadramento Teórico	4
3.1 Produção de queijo em Portugal.....	4
3.2 Consumo de queijo em Portugal.....	7
3.3 Queijo.....	9
3.3.1 Coagulação	9
3.3.2 Moldagem ou Prensagem.....	11
3.3.3 Salga	11
3.3.4 Cura ou maturação.....	11
3.4 Alterações bioquímicas durante a maturação	12
3.4.1 Proteólise	12
3.4.2 Lipólise	14
3.4.3 Glucólise.....	15
3.5 Parâmetros analíticos do queijo.....	16
3.5.1 Parâmetros químicos.....	16
3.5.1.1 Composição química	16
3.5.1.2 Perfil aromático.....	17

3.5.2	Parâmetros físicos	21
3.5.2.1	Textura	21
3.5.2.2	Cor	24
3.6	Desenvolvimento de metodologias sensoriais para queijos	26
4.	Desenvolvimento Experimental.....	29
4.1	Desenvolvimento de metodologias analíticas	29
4.1.1	Parâmetros químicos.....	29
4.1.1.1	Determinação do pH.....	29
4.1.1.2	Determinação do teor de cloretos	30
4.1.1.3	Determinação da humidade.....	31
4.1.1.4	Determinação do teor de gordura livre.....	31
4.1.2	Análise do perfil aromático.....	32
4.1.3	Parâmetros físicos	33
4.1.3.1	Determinação da textura	33
4.1.3.2	Determinação objectiva da cor	33
4.1.4	Análise Sensorial.....	34
4.2	Estudo de Caso: aplicação das metodologias analíticas a queijos da Beira Interior.....	34
4.2.1	Amostragem	34
4.2.2	Tratamento estatístico dos resultados	35
5.	Resultados e Discussão	36
5.1	Parâmetros Químicos	36
5.1.1	Comparação de resultados dos parâmetros químicos entre queijos da mesma marca.....	36
5.1.2	Comparação de resultados dos parâmetros químicos entre marcas diferentes.....	40
5.1.2.1	Composição química	40
5.1.2.2	Composição volátil	42
5.1.3	Análise de <i>Cluster</i> aos parâmetros químicos	44

5.2	Parâmetros físicos	46
5.2.1	Comparação de parâmetros da cor entre marcas diferentes	46
5.2.2	Comparação de parâmetros da textura entre marcas diferentes.....	46
5.3	Análise Sensorial.....	47
5.4	Análise multivariada dos parâmetros químicos e sensoriais	50
6.	Conclusões.....	53
7.	Referências Bibliográficas	55
8.	Cibgrafia.....	62
9.	Anexos	63
	ANEXO I – Ficha de prova sensorial para avaliação de queijo.....	63
	ANEXO II – Comparação de resultados dos parâmetros químicos entre queijos da mesma marca e entre marcas diferentes	64
	II.I - Comparação de resultados dos parâmetros químicos entre queijos da mesma marca	64
	II.II - Comparação dos resultados dos parâmetros químicos entre marcas diferentes.....	65
	ANEXO III – Análise de <i>Cluster</i> aos parâmetros químicos	66
	ANEXO IV – Comparação de resultados dos parâmetros físicos entre marcas diferentes	67
	IV.I - COR.....	67
	IV.II - TEXTURA	68
	ANEXO V – Resultados da análise sensorial das diferentes marcas.....	69
	ANEXO VI – Análise multivariada aos parâmetros químicos e sensoriais	70

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Descrição resumida dos parâmetros do TPA.....	23
Tabela 2 - Relação entre os cinco sentidos e as propriedades sensoriais	26
Tabela 3 -Teor de Cloretos (%) pelo método de Volhard e Mohr	30
Tabela 4 – Médias dos resultados dos parâmetros químicas dos queijos.....	36
Tabela 5 - Compostos voláteis identificados nos queijos das diferentes marcas	43
Tabela 6 - Quantificação dos compostos voláteis nos queijos das diferentes marcas	44
Tabela 7 - Comparação de médias dos parâmetros químicos entre queijos da marca 1	64
Tabela 8 - Comparação de médias dos parâmetros químicos entre queijos da marca 2	64
Tabela 9 - Comparação de médias dos parâmetros químicos entre queijos da marca 3	65
Tabela 10 - Comparação de médias dos parâmetros químicos entre queijos de marcas diferentes.....	65
Tabela 11 - Análise factorial dos principais componentes dos parâmetros químicos ..	66
Tabela 12 - Distâncias euclidianas entre queijos com base nos parâmetros químicos	66
Tabela 13 - Comparação de médias dos parâmetros da cor entre queijos de marcas diferentes.....	67
Tabela 14 - Comparação de médias dos parâmetros de textura entre queijos de marcas diferentes	68
Tabela 15 - Médias dos atributos sensoriais das diferentes marcas de queijo.....	69
Tabela 16 - Análise factorial aos principais componentes dos parâmetros químicos e sensoriais	70
Tabela 17 - Distâncias euclidianas entre queijos com base nos parâmetros químicos e sensoriais	71

Índice de Figuras

Figura 1 – Peso relativo dos produtos lácteos obtidos a partir do leite recolhido.....	4
Figura 2 - Peso da produção de queijo por espécie no ano 2005.....	5
Figura 3 - Produção de queijo (t) no período de 2006 a 2010	5
Figura 4 - Produção de queijo, por tipo de queijo, no período de 2006 a 2010.....	6
Figura 5 - Produção de queijos na Europa em 2007	6
Figura 6 - Consumo humano de leite e produtos lácteos <i>per capita</i> (kg/habitante) no período de 2004 a 2008.....	7
Figura 7 – Peso relativo do consumo de leite e produtos lácteos <i>per capita</i> (kg/habitante).....	8
Figura 8 - Consumo de queijo <i>per capita</i> (kg/habitante) em alguns países da Comunidade Europeia, no ano de 2004.....	8
Figura 9 - Formação de aromas nos produtos lácteos	18
Figura 10 - Representação gráfica esquemática do teste TPA.....	24
Figura 11 - Espaço uniforme de cor $L^*a^*b^*$	26
Figura 12 - Colheita de amostra	35
Figura 13 - Comparação do pH e teor de cloretos entre queijos da marca 1	37
Figura 14 - Comparação do teor de humidade e gordura entre queijos da marca 1 ...	37
Figura 15 - Comparação do pH e teor de cloretos entre queijos da marca 2.....	38
Figura 16 - Comparação do teor de humidade e gordura entre queijos da marca 2 ...	38
Figura 17 - Comparação do pH e teor de cloretos entre queijos da marca 3.....	39
Figura 18 - Comparação do teor de humidade e gordura entre queijos da marca 3 ...	40
Figura 19 – Comparação do pH e teor de cloretos entre marcas	41
Figura 20 - Comparação do teor de humidade e gordura entre marcas	41
Figura 21 – Dendograma das amostras	45

Figura 22 - Comparação dos parâmetros da cor entre marcas	46
Figura 23 - Comparação de propriedades da textura entre marcas.....	47
Figura 24 – Resultados da análise sensorial.....	48
Figura 25 – Projecção das amostras de queijo e dos parâmetros químicos e sensoriais no plano definido pelas duas primeiras componentes principais.....	50
Figura 26 - Dendograma das amostras atendendo aos parâmetros químicos e sensoriais	52

Lista de Abreviaturas

AGL - Ácidos Gordos Livres

GC – Cromatógrafo gasoso

ISO – *International Organization for Standardization*

M.G.E.S. – Matéria Gorda no Extracto Seco

MS - *Mass Spectrometry*

NP – Norma Protuguesa

QDA – Análise Descritiva Quantitativa

SPME – *Solid Phase Microextraction*

TAG – Triacilglicéridos

TPA - Análise do perfil de textura

UE – União Europeia

VABpm – Valor Acrescentado Bruto Preços de Mercado

W_{Cl} – Teor de cloretos

W_F – Teor de gordura livre

W_M – Teor de humidade

1. Objectivo

A presente dissertação de mestrado teve por base a proposta de um Laboratório, vocacionado para a análise de águas, a querer principiar a prestação de serviços no ramo alimentar. O objectivo inicial centrou-se no desenvolvimento de uma sala de provas de análise sensorial e implementação dos respectivos métodos, bem como, de metodologias de análise físico – química. No que respeita a sala de provas, foi analisada uma proposta já elaborada, a fim de detectar eventuais correcções e melhorias a realizar, de acordo com a ISO 8589. No que diz respeito aos métodos de análise sensorial a implementar, seleccionou-se o método mais adequado para uma avaliação descritiva das propriedades sensoriais de um produto, a análise descritiva quantitativa.

A selecção de metodologias teve por base legislação existente e documentos de referência, nomeadamente, A.O.A.C, International Standard Methods e Normas Portuguesas. Para verificar as metodologias mais adequadas ao pretendido pelo laboratório e ir de encontro às necessidades dos clientes, optou-se por escolher um produto alimentar característico da região com o propósito de as testar.

Neste sentido, este estudo teve como principal objectivo o desenvolvimento de metodologias analíticas para queijos, tendo sido realizados ensaios físicos, químicos e sensoriais em três marcas de queijo de ovelha da Beira Interior.

2. Introdução

A segurança alimentar é uma área cada vez mais em expansão, devido aos consumidores demonstrarem uma maior preocupação com os alimentos que adquirem. Assim, os produtores, as indústrias alimentares e transformadoras e os retalhistas têm de assegurar a integridade e segurança dos alimentos, tanto a nível químico como microbiológico. Esta segurança é mantida, não só seleccionando matérias-primas de qualidade mas, também, realizando análises de controlo periódicas. Neste sentido, é importante a existência de laboratórios de segurança alimentar em regiões com elevada presença do sector alimentar.

A região da Beira Interior possui as condições necessárias para o desenvolvimento de serviços em qualidade e segurança alimentar, principalmente, laboratórios especializados na análise de alimentos, uma vez ser uma zona com elevada produção e comercialização de diferentes produtos, nomeadamente, produtos cárneos, lácteos e frutícolas.

Os produtos lácteos, principalmente os queijos, são bastante importantes no desenvolvimento e reconhecimento desta região e, por isso, os laboratórios prestadores de serviços alimentares desenvolvem as suas metodologias, essencialmente, para este tipo de produtos.

Em Portugal, a produção de queijos de excelência, tanto de vaca como de ovelha, cabra ou mistura, é consequência de um território repleto de bons pastos. Embora não seja um país de clima propício ao fabrico de uma grande variedade de queijos, verificamos que em certas regiões mais frias ainda se fabricam, artesanalmente, alguns de grande qualidade. Dependendo da altura do ano, podem comer-se os queijos frescos, amanteigados, de meia cura ou curados.

O queijo de ovelha é um dos preferidos pelos consumidores, sendo um produto bastante característico da região beirã, na qual se encontra a maior parte dos rebanhos e dos produtores, sendo fabricados, principalmente, entre Novembro e Março.

Os queijos tradicionais da região da Beira Interior têm uma grande importância socioeconómica, devido ao número muito significativo de pequenos produtores que os fabricam, tendo sido implantadas novas unidades produtivas que tentam conciliar os métodos tradicionais com as modernas tecnologias de fabrico (Reis *et al.*, 2004).

Estes queijos, devido às suas propriedades, caracterizam-se como curados, de pasta semi-dura ou semi-mole, ligeiramente amarelados, com alguns olhos pequenos e são obtidos por esgotamento lento da coalhada, após coagulação do leite cru de ovelha, pela infusão do cardo (*Cynara cardunculus L.*) (Reis *et al.*, 2004).

Devido ao aumento do consumo destes produtos regionais, aliado ao interesse por parte dos produtores em manterem a qualidade do produto, é necessária a manutenção da qualidade no processo de fabrico e no produto final, que só é possível se conhecermos os factores físico-químicos e microbiológicos que a determinam (Machado, 2003; Reis *et al.*, 2004).

3. Enquadramento Teórico

3.1 Produção de queijo em Portugal

A indústria de lacticínios representava, em 2005, cerca de 11 % do VABpm total gerado pela indústria agro-alimentar e bebidas. No subsector dos queijos, a indústria encontrava-se muito suprimida, coexistindo empresas de grandes e pequenas dimensões, muitas delas com fracos recursos tecnológicos e com baixo nível de diferenciação da produção (GPP, 2007).

O principal destino do leite recolhido é o leite de consumo, o leite fermentado e o queijo, que apresentaram valores bastante estáveis, num período de 2001 a 2005 (figura 1).

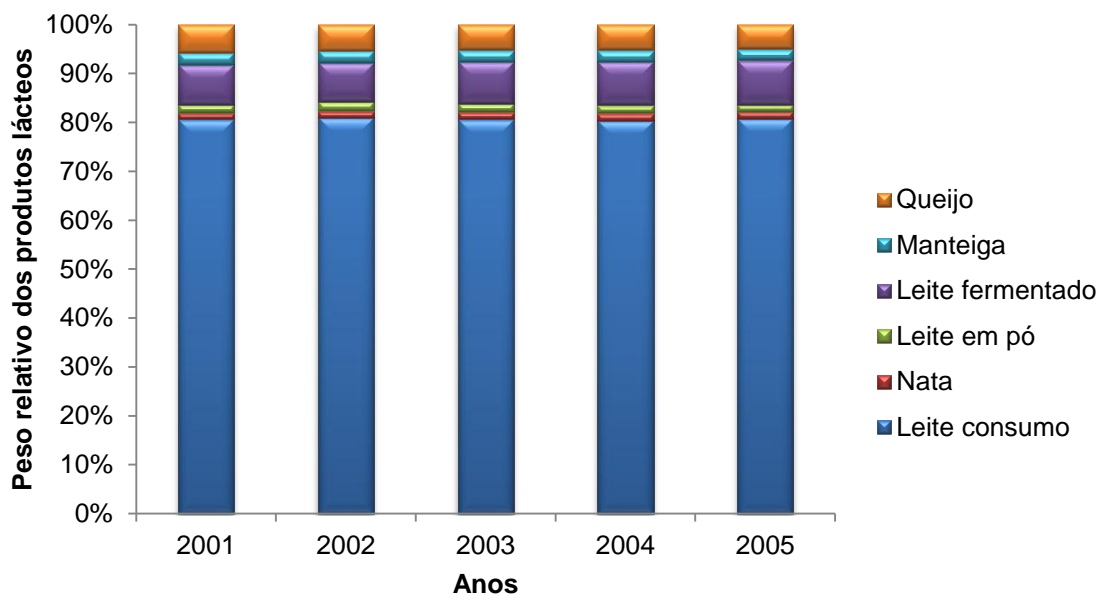


Figura 1 – Peso relativo dos produtos lácteos obtidos a partir do leite recolhido

Fonte: GPP, 2007

Em 2007, o sector dos lacticínios representava cerca de 11,5 % da produção agrícola nacional, registando uma oferta crescente de leite e produtos lácteos, e uma melhoria global da qualidade da matéria-prima e dos produtos transformados. No subsector do queijo, existia um número muito significativo de empresas de média / pequena dimensão, com produção média anual de 13,6 t, muitas das quais relacionadas com a produção de queijos de ovelha e cabra. Os leites de ovelha e de cabra são utilizados, quase integralmente, na produção de queijo, quer em mistura com leite de vaca quer em uso exclusivo, sendo o seu peso relativo significativo face ao volume total de queijo produzido (figura 2) (GPP, 2007).

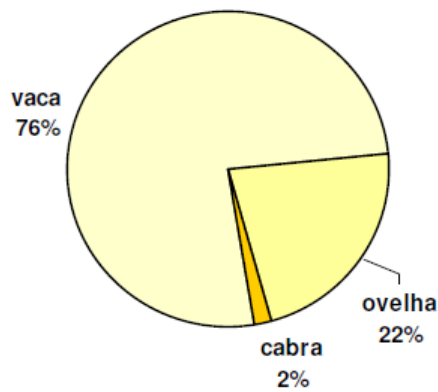


Figura 2 - Peso da produção de queijo por espécie no ano 2005

Fonte: GPP, 2007

Segundo dados do INE, no ano 2008, a produção total de queijo registou uma redução de cerca de 3 %, face ao ano anterior, devido aos decréscimos da produção de queijo de vaca e ovelha. A produção destes queijos foi, aproximadamente, 4 % inferior, correspondendo a 56 mil toneladas e 15 mil toneladas, respectivamente. Quanto ao queijo de mistura e de cabra, verificou-se um aumento do volume produzido, cerca de 5 mil e 1,6 mil toneladas (INE, 2009).

Dados de 2010, mostram um aumento na produção de queijo, devido à aposta feita pelos produtores na certificação da qualificação e valorização no mercado dos produtos tradicionais (**figura 3**).

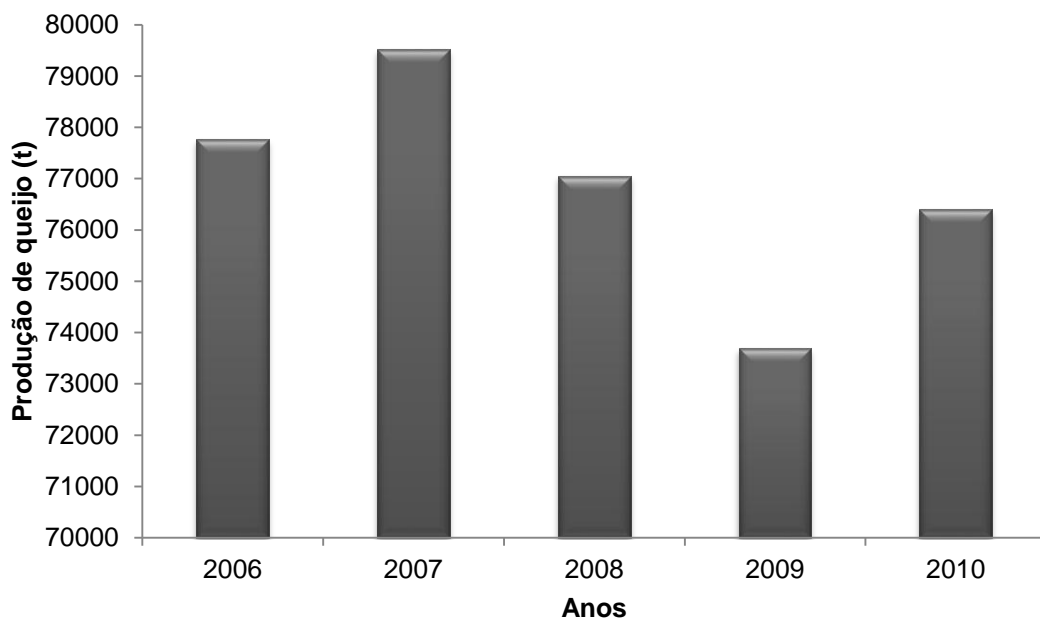


Figura 3 - Produção de queijo (t) no período de 2006 a 2010

Fonte: INE, 2011

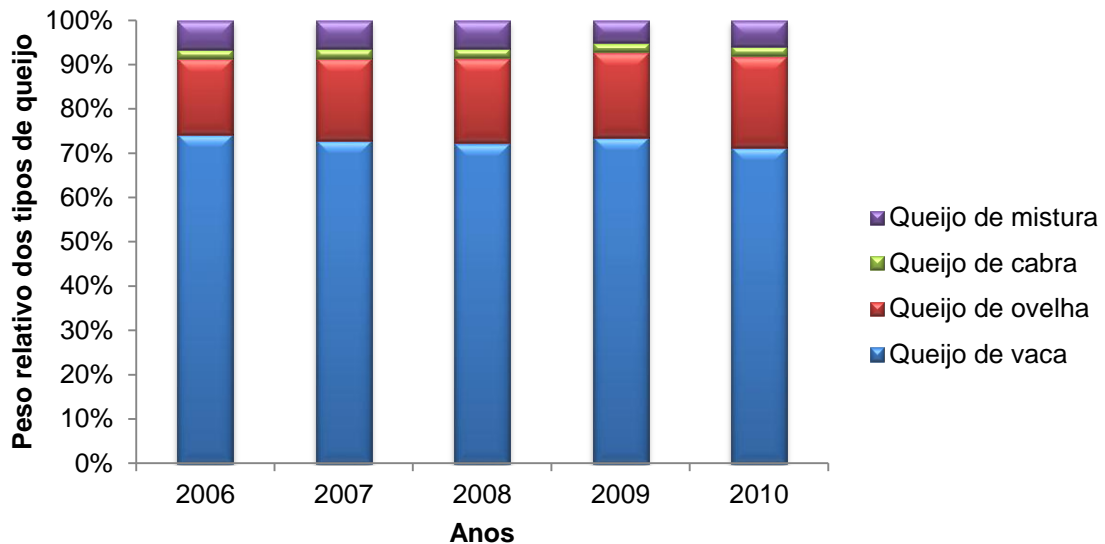


Figura 4 - Produção de queijo, por tipo de queijo, no período de 2006 a 2010

Fonte: INE, 2011

De uma maneira geral, no período de 2006 a 2010, o queijo de vaca é o que apresenta uma maior produção, mas tem um decréscimo de, aproximadamente, 3 % que se traduz no aumento da produção de queijo de ovelha. Quanto aos queijos de cabra e mistura, apresentam produções inferiores às dos queijos de vaca e ovelha, mas são constantes no período considerado (**figura 4**).

No panorama Europeu, em 2007, Portugal estava integrado, assim como a grande maioria dos restantes países, no intervalo de produção de queijo até 2,1 mil toneladas, sendo os maiores produtores a França e a Alemanha, com produções acima das 1300 mil toneladas (**figura 5**).

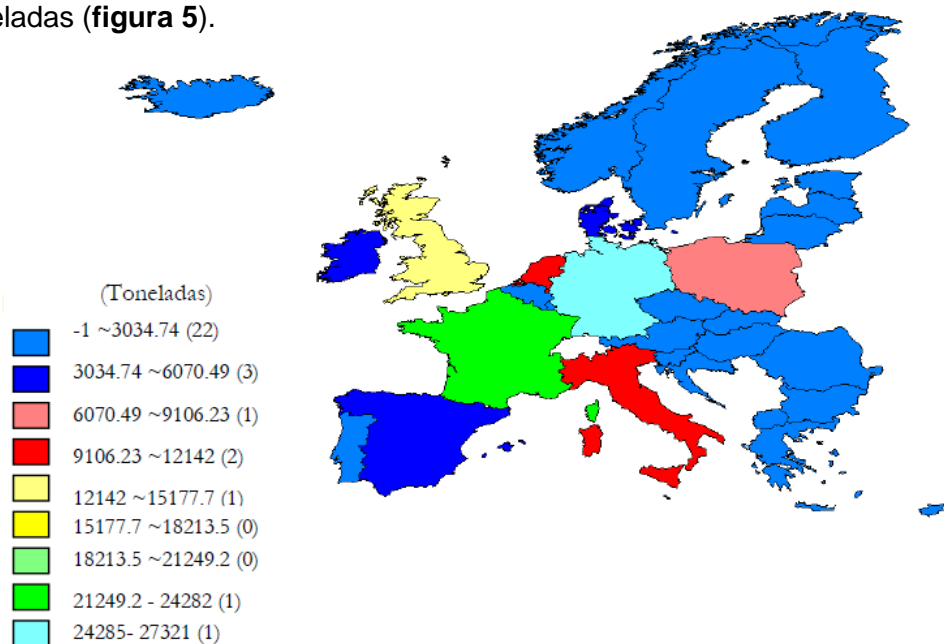


Figura 5 - Produção de queijos na Europa em 2007

Fonte: Nunes, 2009

Em Portugal, principalmente na Beira Interior, a designação de alguns produtos alimentares, nomeadamente os queijos, está directamente ligado à região na qual é produzido, bem como à forma como é produzido. Tem-se verificado um enorme interesse em produtos tradicionais pela especificidade das suas características organolépticas (Reis *et al.*, 2004).

3.2 Consumo de queijo em Portugal

De acordo com dados do INE, observa-se, desde 2006, uma diminuição do consumo *per capita* de leite e produtos lácteos, tendo sido bastante expressiva no ano de 2010 (figura 6).

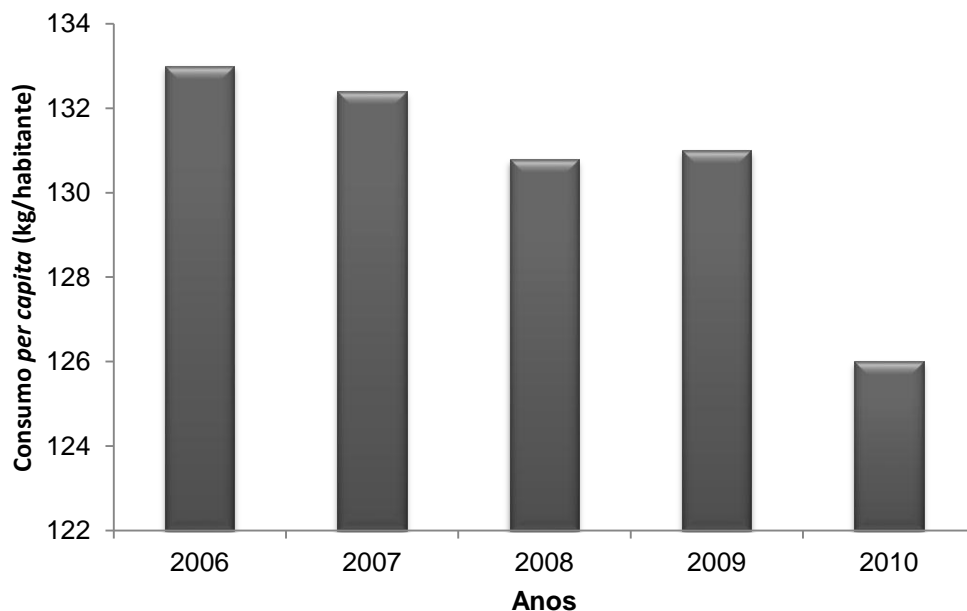


Figura 6 - Consumo humano de leite e produtos lácteos *per capita* (kg/habitante) no período de 2004 a 2008

Fonte: INE, 2011

Analisando o consumo de leite e produtos lácteos, observa-se que o leite continua a ser o género alimentício com maior importância no contexto do consumo *per capita*, apresentado um peso relativo próximo dos 70 %. Quanto ao queijo, representa cerca de 10 % do peso relativo do consumo de produtos lácteos, apresentando um valor constante ao longo do tempo (figura 7).

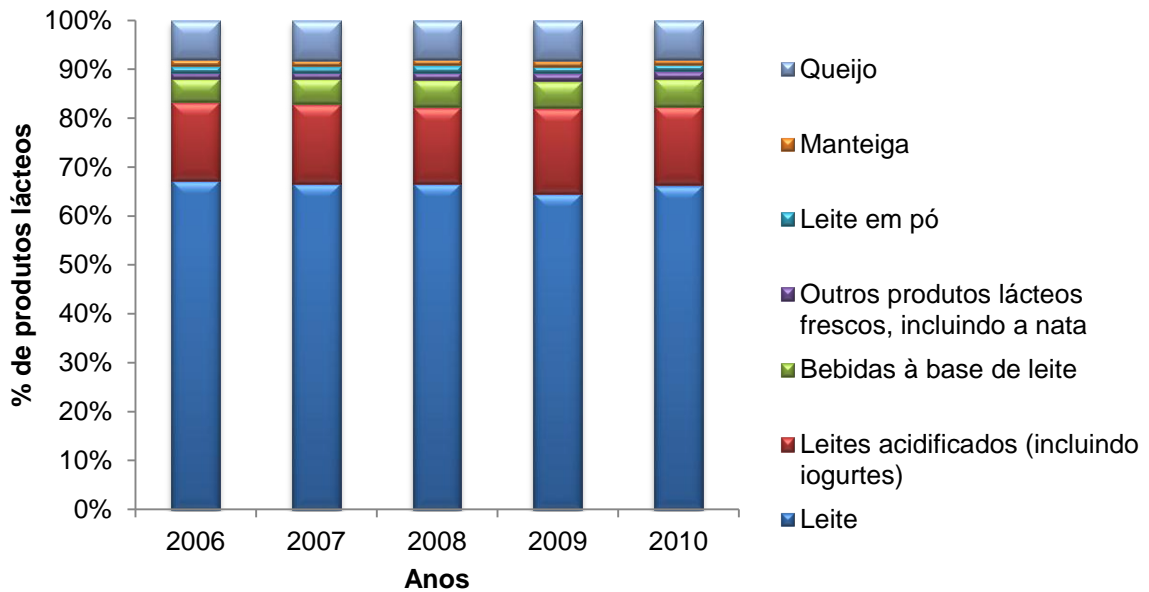


Figura 7 – Peso relativo do consumo de leite e produtos lácteos *per capita* (kg/habitante)

Fonte: INE, 2011

Quando comparado com o nível do consumo na União Europeia, o consumo de queijo tem estagnado nos últimos anos, essencialmente, devido à mudança de hábitos alimentares, por parte dos consumidores. No entanto, ainda existe alguma margem de progressão para aumentar o seu consumo (GPP, 2007).

Portugal apresentava, em 2004, um consumo *per capita* semelhante aos do Reino Unido e Irlanda, que são aqueles que têm um menor consumo de queijo, exibindo valores inferiores a 10 kg/habitante (figura 8) (Nunes, 2009).

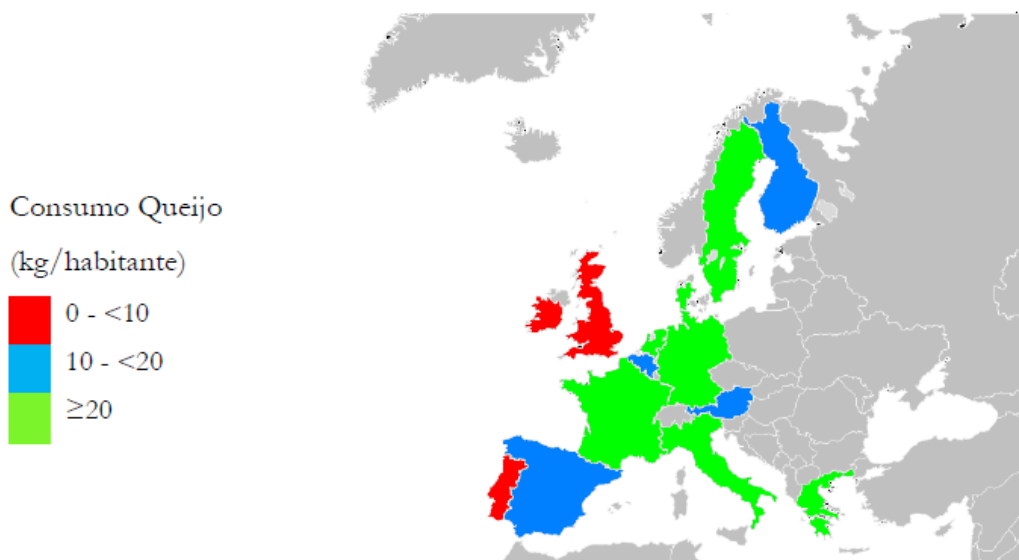


Figura 8 - Consumo de queijo *per capita* (kg/habitante) em alguns países da Comunidade Europeia, no ano de 2004

Fonte: Nunes, 2009

3.3 Queijo

Entende-se por queijo o produto fresco ou curado, de consistência variável, obtido por coagulação e dessoração do leite, ou do leite total ou parcialmente desnatado mesmo que reconstituído, assim como da nata, do leitelho e a mistura de alguns ou de todos estes produtos (incluindo lactosoro), com ou sem a adição de géneros alimentícios. É classificado de acordo com: i) o leite utilizado (de vaca, ovelha ou cabra), ii) a cura, iii) a textura ou consistência e iv) teor de matéria gorda no resíduo seco (NP 1589, 1983).

O fabrico de queijo é um processo complexo, uma vez que envolve muitas etapas e várias modificações bioquímicas. Os principais processos de fabrico são a coagulação e o dessoramento, a moldagem/prensagem, a salga e a maturação/cura. Estes podem variar em termos tecnológicos, permitindo obter uma enorme variedade de queijos (Fox *et al.*, 2000; Fernandes *et al.*, 2001; Ventura, 2003; Walstra *et al.*, 2006).

3.3.1 Coagulação

Nesta etapa, procede-se à coagulação da caseína do leite, obtendo-se um gel sólido vulgarmente designado por coalhada, o qual aprisiona a gordura existente no leite. A desnaturação da caseína é provocada pela actividade enzimática, pelos ácidos ou pela conjugação de ambos. Para obtenção da coalhada é necessário adicionar ao leite um fermento ou cultura inicial de bactérias, o coalho (enzimas proteolíticas) e outros aditivos. A selecção do tipo de culturas a usar é feita em função do tipo de queijo pretendido. Este processo é dependente da temperatura, do pH e do teor de cálcio do leite (Fox *et al.*, 2000, 2004; Fernandes *et al.*, 2001).

As culturas adicionadas têm como função produzir ácido láctico, a partir de lactose, desnaturar as proteínas e, em alguns casos, produzir dióxido de carbono. A produção de ácido láctico contribui para a diminuição do pH, que apresenta uma elevada importância na compressão do coalho e na eliminação do soro. O pH resultante influencia parâmetros como a consistência e maturação do queijo. Durante este processo, são também libertados sais de cálcio e fósforo, que influenciam a firmeza ou rigidez da coalhada (Fox *et al.*, 2000, 2004; Fernandes *et al.*, 2001).

Outra função importante das bactérias lácticas é a supressão de outras bactérias que sobreviveram à pasteurização. Na maioria dos casos, para obtenção da coalhada, é necessário a acção do coalho, cuja actividade enzimática provoca a coagulação da caseína. São ainda adicionados cloreto de cálcio, para obter uma maior firmeza da

coalhada, e dióxido de carbono, para diminuição do tempo de coagulação (Fox *et al.*, 2000, 2004; Fernandes *et al.*, 2001).

Na acidificação biológica, as bactérias desempenham funções importantes para o início da maturação. No entanto, quando nos queijos a textura é mais importante que o sabor, utiliza-se a acidificação química (Fox *et al.*, 2000).

A relação entre tempo/velocidade, de produção de ácido, é fundamental para o fabrico de queijos de boa qualidade. Esta produção afecta vários aspectos do processo de fabrico, nomeadamente, a actividade coagulante; a desnaturação e retenção do coagulante, que influenciam a taxa de proteólise durante a maturação; a força da coalhada, que altera o rendimento do queijo; a estrutura do gel que, para além de controlar a humidade e regular o crescimento bacteriológico e a actividade enzimática nos queijos, influencia a taxa e o padrão de maturação; e, por fim, a extensão da dissolução do fosfato de cálcio, que modifica a susceptibilidade das caseínas à proteólise durante a maturação e afecta as propriedades reológicas do queijo (Fox *et al.*, 2000, 2004).

Independentemente da taxa de acidificação, o pH no final da coalhada, para a maioria dos queijos, situa-se entre os valores 5,0 e 5,3 (Fox *et al.*, 2000).

A operação de coagulação é realizada em cubas de aço inox, nas quais são adicionadas os aditivos, a cultura e o coalho do leite aquecido a 30 °C (Fernandes *et al.*, 2001).

Quando a coalhada atinge o ponto, efectua-se o seu corte, obtendo-se pequenos grãos. Após o corte, a mistura é agitada suavemente e o soro é escoado, ocorrendo o dessoramento. Em seguida, procede-se ao aquecimento da coalhada para regulação do tamanho e acidez (Fernandes *et al.*, 2001).

Quando a coalhada é realizada num meio pouco ácido tem maior capacidade de retenção do sal, relativamente a meios mais ácidos. Isto ocorre, uma vez que a coalhada em meio pouco ácido contém mais humidade que a coalhada ácida e, portanto, apresenta uma maior percentagem de água libertada, resultando numa maior perda de sal (Fox *et al.*, 2000, 2004).

3.3.2 Moldagem ou Prensagem

Após o dessoramento, o coalho pode ser tratado de diferentes formas, podendo ser transferido directamente para os moldes (queijo granular) ou, previamente, prensado e cortados (queijo prato) (Fernandes *et al.*, 2001).

A prensagem efectua-se com o objectivo de expulsar o restante soro, melhorar a textura e dar forma ao queijo. A velocidade de prensagem deve ser gradual e aplicada a cada tipo de queijo, a fim de não provocar bolsas de humidade (Fernandes *et al.*, 2001).

3.3.3 Salga

A adição de sal, geralmente 1 a 4 %, para além de funcionar como condimento remove a humidade do queijo através do efeito osmótico. Existem várias maneiras de se proceder à salga, quer adicionando o sal directamente ao coalho, por pulverização após a expulsão do soro, quer submergindo os queijos em tanques com salmoura. O sal adicionado contribui, para o sabor, durabilidade e consistência do queijo, assim como, para a sua maturação (Fox *et al.*, 2000; Fernandes *et al.*, 2001).

3.3.4 Cura ou maturação

Apesar de muitos queijos serem consumidos frescos, existem outros que são curados durante um período compreendido entre 3 semanas a 2 anos. Geralmente, a duração do período de maturação é inversamente proporcional ao teor de humidade do queijo (Fox *et al.*, 2000, 2004).

Existem queijos que podem ser consumidos em qualquer um dos diferentes estágios de maturação, de acordo com as preferências de sabor dos consumidores, bem como, o preço do produto final. As mudanças que ocorrem durante a maturação e que influenciam a formação do sabor, aroma e textura, são determinados pelo processo de fabrico, isto é, pela composição (humidade, NaCl e pH), pelo nível de actividade coagulante e pelo início do processo de maturação (acidificação química ou biológica) (Fox *et al.*, 2000, 2004).

Nesta etapa, o queijo é sujeito a um conjunto de transformações com origem em processos microbiológicos, físicos e bioquímicos. Estas transformações afectam a lactose, a proteína e a gordura, permitindo o desenvolvimento do sabor e da textura. O

grau e a velocidade da fermentação da lactose são controlados para regular o crescimento e actividade das bactérias lácticas. O grau de decomposição da caseína também afecta a qualidade do queijo, particularmente, a sua consistência e sabor (Fox *et al.*, 2000, 2004; Fernandes *et al.*, 2001).

As principais alterações bioquímicas envolvem a proteólise, a glucólise e a lipólise. No entanto, podem ocorrer outras reacções como o catabolismo de compostos produzidos nas reacções principais, que incluem a desaminação, a descarboxilação e a desfosforilação de aminoácidos ou, ainda, reacções de esterificação (Fox *et al.*, 2000, 2004).

Durante a maturação do queijo, as reacções físicas, químicas e microbiológicas, bem como, os processos enzimáticos, conferem características de textura e *flavour* bastante particulares. Os compostos voláteis do *flavour* constituem um dos critérios mais importantes da qualidade do queijo para a aceitação do consumidor (Fox *et al.*, 2000, 2004; Canada, 2001; Walstra *et al.*, 2006).

3.4 Alterações bioquímicas durante a maturação

A proteólise e a lipólise são dois processos primários no amadurecimento do queijo, com uma variedade de características físicas, químicas, microbiológicas, mudanças de textura e reológicas que ocorrem, geralmente, em condições ambientais controladas (Park, 2001).

3.4.1 Proteólise

A proteólise é o processo bioquímico mais importante da maturação e abrange um conjunto de reacções mais complexo, comparativamente, com a lipólise e glicólise (Steele *et al.*, 1997).

A proteólise consiste na degradação das proteínas por enzimas proteolíticas, principalmente as caseínas, do qual resultam péptidos e/ou aminoácidos livres. O índice de concentração destes compostos pode variar e contribui para o sabor básico do queijo (Walstra *et al.*, 2006).

Os aminoácidos podem ser, posteriormente, convertidos em moléculas mais pequenas, como amónia, ácidos orgânicos, aminas, ésteres, compostos de baixo peso molecular, enxofre, entre outros, que contribuem para o aroma de queijo curado. No

entanto, alguns péptidos são amargos e, mesmo quando presentes em pequenas concentrações, causam um sabor amargo, sendo considerado um defeito. Contudo, em concentrações adequadas e devidamente compensada por outros compostos, estes péptidos amargos podem contribuir positivamente para o sabor (Fox & McSeeney, 1998, 2000; Culbertson *et al.*, 2006).

Apesar da proteólise depender do tempo decorrido durante o processo de fabrico, bem como, das condições durante a maturação, o factor que diferencia a proteólise nas diferentes variedades de queijo, para o mesmo tempo de maturação, é o tipo de coalho empregue no fabrico. Quanto maior for o tempo de maturação, mais intensa é a proteólise (Canada, 2001).

A contribuição da proteólise nas características finais do queijo verifica-se a quatro níveis: (i) a formação de péptidos, com conseqüente alteração da textura; (ii) a produção de aminoácidos, que funcionam como precursores para a formação de outros compostos; (iii) a libertação de componentes do sabor, que de outra forma eram retidos na matriz proteica; e (iv) a libertação de amoníaco (Fox *et al.*, 2000, 2004; McSweeney & Sousa, 2000; Canada, 2001; Yvon & Rijnen., 2001; Walstra *et al.*, 2006).

A intensidade de degradação das proteínas e as quantidades dos compostos resultantes são muito diferentes para os diferentes queijos, dependendo do tipo e quantidade de coalho, da cultura bacteriana utilizada, do teor de humidade, do pH, da percentagem de sal e da temperatura de armazenamento (Culbertson *et al.*, 2006).

A proteólise é a principal responsável pelas propriedades de textura, como a dureza, elasticidade, coesão, adesividade, fracturabilidade e outras propriedades emulsionantes (Fox *et al.*, 2000).

Assim, tem havido um enorme interesse em caracterizar o padrão e a extensão da proteólise, para servir como índice de maturação, qualidade e para quantificar e caracterizar a contribuição de cada agente na proteólise do queijo (Fuquay *et al.*, 2011).

3.4.2 Lipólise

Uma das principais funções da gordura do queijo, do ponto de vista tecnológico bem como de qualidade sensorial do produto, é a sua participação na formação de aromas, determinada, principalmente, pelo conteúdo em ácidos gordos livres. A composição destes ácidos nas diferentes variedades representa uma enorme variabilidade, dependendo do leite e da tecnologia de fabrico utilizada, a qual vai ser determinante para uma maior ou menor actividade lipolítica (Najera *et al.*, 1993; Canada, 2001).

Por outro lado, é de salientar que a influência da gordura no aroma característico dos queijos é específica das distintas variedades, dependendo da concentração e do perfil de ácidos gordos livres durante a maturação (Najera *et al.*, 1993; Canada, 2001).

A lipólise é devida, principalmente, à acção de lipases do leite de natureza lipoproteica mas, também, devido à actividade lipolítica microbiana. No entanto, a oxidação lipídica não ocorre de forma significativa no queijo, devido ao seu baixo potencial redox (Fox & Wallace, 1997; Fox & McSweeney, 1998; Fox *et al.*, 2000; McSweeney & Sousa, 2000).

Existem factores que influenciam a actividade lipolítica, nomeadamente, a qualidade do leite, o seu grau de agitação e homogeneização, o pH, a concentração de sal e o tempo e temperatura de maturação (Najera *et al.*, 1993; Canada, 2001).

A lipólise extensa ocorre, essencialmente, em duas famílias de queijos, italianos e azuis, nas quais os ácidos gordos e os produtos da sua degradação são os principais contribuintes para o seu sabor (Fox & McSweeney, 1998). A lipólise de maior grau ocorre durante a primeira semana da maturação, sob a acção das lipases do leite cru, estabilizando pouco depois a um valor constante até ao final da maturação (Malcata, 1996; Canada, 2001). Estas lipases apresentam um pH óptimo de 6 a 8, mostrando uma grande especificidade para triglicéridos de cadeia curta (Canada, 2001).

A lipólise afecta as características sensoriais do queijo, sobretudo quando se formam ácidos gordos livres os voláteis de cadeia curta, que contribuem positivamente para o seu sabor. Estes podem reagir de forma a produzir outros compostos, como as metil cetonas, ésteres alifáticos e aromáticos, aldeídos, lactonas e álcoois, que permitem obter sabores característicos de determinados queijos (Molimard & Spinnler 1996; Canada, 2001; Fuquay *et al.*, 2011).

No entanto, a lipólise é indesejável na maioria dos queijos, porque um nível de ácidos gordos livres acima do desejável será considerado rançoso. As proporções destes

ácidos no queijo são semelhantes às do leite, pois são libertados de forma inespecífica (Fox *et al.*, 2000).

3.4.3 Glucólise

A primeira reacção que ocorre na glucólise é a conversão de lactose em lactato, por intermédio da cultura de arranque, durante a coalhada ou nos primeiros estágios de maturação. Nos casos em que a glucólise não for concluída, utilizam-se bactérias lácticas que contribuem para o metabolismo da lactose (Fox *et al.*, 1999, 2000; Walstra *et al.*, 2006).

Cerca de 96 % da lactose do leite é removida no soro, em lactose ou lactato. A concentração de lactose na coalhada depende, basicamente, do teor de humidade e da extensão da fermentação, antes da moldagem. A fermentação da lactose residual é dependente da percentagem de sal na humidade na coalhada (S/M) (Fox *et al.*, 1999, 2000).

Quando a razão de S/M é baixa, a lactose residual é convertida em L-lactato. Em níveis de S/M elevados, perto dos 6 %, a concentração de lactose diminui lentamente e ocorrem ligeiras alterações no lactato. A qualidade do queijo Cheddar, por exemplo, é fortemente influenciada pela fermentação da lactose residual, isto é, o pH diminui após a salga quando apresenta níveis S/M abaixo dos 5 %; em níveis de S/M elevados, a actividade inicial diminui abruptamente, indicado por um alto nível de lactose residual e um pH elevado, acompanhado por uma diminuição acentuada na sua qualidade (Fox *et al.*, 1999, 2000).

Durante a maturação, o ácido láctico é importante no desenvolvimento do sabor, especialmente de queijos jovens que carecem de compostos aromáticos. Este ácido influencia o pH do queijo e, conseqüentemente, a sua textura, uma vez que o pH afecta a solubilidade do $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ que, indirectamente, afecta a textura (Fox *et al.*, 1999, 2000; Walstra *et al.*, 2006).

O ácido láctico é, também, necessário como substrato para o crescimento microbiano em muitos queijos, sendo o seu catabolismo fundamental para o desenvolvimento de sabores e aromas (Fox *et al.*, 1999, 2000; Walstra *et al.*, 2006).

Contudo, em comparação com outras alterações bioquímicas que ocorrem durante a maturação, a conversão de lactose em lactato pode ter pouca influência no desenvolvimento de sabores. No entanto, apresenta uma elevada importância na regulação de outras reacções bioquímicas, uma vez que determina o pH do queijo (Fox *et al.*, 1999, 2000; Walstra *et al.*, 2006).

3.5 Parâmetros analíticos do queijo

3.5.1 Parâmetros químicos

Os principais factores que determinam a composição do queijo são as proporções relativas de água, gordura, proteínas e minerais, a natureza e extensão da fermentação, sendo influenciadas pela tecnologia de fabrico (Fuquay *et al.*, 2011).

3.5.1.1 Composição química

A composição bruta e o pH fornecem dados muito importantes relacionados com a qualidade e, portanto, a medição do pH e dos níveis de sal, humidade e gordura são bastante comuns e necessária (McSweeney, 2007).

O pH é uma característica importante durante o processo de produção o seu valor final indica como decorreu o processo, e se há ou não ausência de defeitos, como uma elevada acidez. Geralmente, o pH em queijos de ovelha está entre os valores de 4,9 e 5,7 e o seu aumento ocorre, essencialmente, na maturação mais longa, isto é, superior a 45 dias (Canada, 2001). O pH é determinado pela relação de ácido láctico e a sua capacidade tampão que é controlada, principalmente, pelos níveis de caseína e fosfato de cálcio (Fuquay *et al.*, 2011).

O teor de NaCl é um parâmetro estatisticamente significativo para todas as características microbiológicas e físico-químicas devido à sua capacidade de reduzir a actividade da água, a qual afecta o desenvolvimento microbiano (Canada, 2001). Assim, o sal actua como conservante e contribui, directamente, para o sabor e qualidade.

A adição de sal não modifica a composição bruta dos queijos mas, em qualquer variedade, há uma relação inversa entre os níveis de sal e humidade; concentrações elevadas de sal são associadas ao aumento dos níveis de gordura e proteína, devido à perda de água. Quando se relacionam os níveis de gordura e humidade, estes

apresentam uma proporção inversa. As concentrações de ácido láctico e lactose e o pH do queijo dependem da actividade da cultura *starter* e, conseqüentemente, do conteúdo de sal (Fox *et al.*, 2000; McSweeney, 2007).

As variações na concentração de sal também são utilizadas para controlo da maturação, a qual é retardada quando o sal está presente em elevadas concentrações, uma vez que tem um efeito inibidor sobre as enzimas. As baixas concentrações de sal são inconvenientes, pois a actividade enzimática é excessiva ou desequilibrada, produzindo compostos de aromas indesejáveis, como a amargura (Fox *et al.*, 2000).

O sal, conjuntamente com o pH e o nível de cálcio, tem um grande efeito sobre o grau de hidratação e agregação da caseína e, naturalmente, nas propriedades reológicas e texturais do queijo (McSweeney, 2007).

No que diz respeito ao teor de gordura, influência as características estruturais e reológicas do queijo, mas também, participa na formação do seu aroma (Canada, 2001).

3.5.1.2 Perfil aromático

Nos lacticínios, as transformações químicas de compostos e a libertação de metabolitos microbianos contribuem para o aroma, aparência e textura. A lactose, o citrato, a gordura do leite e as proteínas são convertidas numa ampla gama de compostos voláteis e não voláteis (Singh *et al.*, 2003; Nollet & Toldrá, 2010).

O consumo de lacticínios está fortemente relacionado com a estimulação dos sentidos humanos, nomeadamente, o aroma e o sabor. No entanto, a classificação dos compostos, com base na sua polaridade e/ou volatilidade, não é simples, devido à sua complexidade. Para o consumidor, o aroma é desencadeado por misturas de moléculas voláteis altamente complexas, principalmente hidrofóbicas e, geralmente, ocorrem em concentrações ao nível do ppm e ppb (Gunasekaran & Ak, 2003; Nollet & Toldrá, 2010; Fuquay *et al.*, 2011).

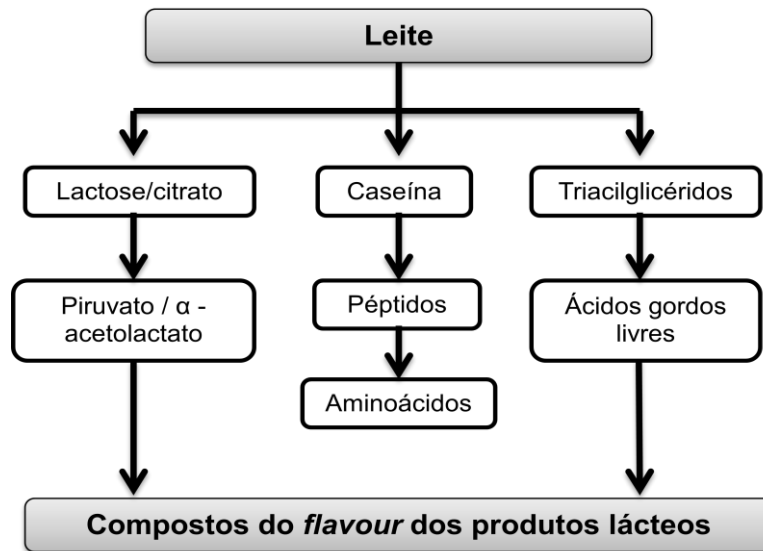


Figura 9 - Formação de aromas nos produtos lácteos

Fonte: adaptado de Nollet *et al.*, 2010

O sabor do queijo está concentrado na fracção solúvel em água (péptidos, aminoácidos, ácidos orgânicos, aminas, NaCl), enquanto o aroma está concentrado, principalmente, na fracção volátil (Fox & McSweeney, 1998).

Como já foi referido, o aroma do queijo pode ser formado por três vias: a proteólise, a lipólise e a glucólise (**figura 9**). Estes processos podem dar origem a determinados compostos do sabor, podendo ocorrer outras reacções que produzem um número ainda maior de componentes de baixo peso molecular que são essenciais para o aroma característico do queijo. O *flavour* é, assim, composto por uma mistura de componentes provenientes destas reacções (Singh *et al.*, 2003; Nollet & Toldrá, 2010).

Geralmente, os aromas derivam da lactose ou citrato (glucólise), bem como, do ácido láctico, acetaldeído e 2,3-butanediona, que são produzidos pela flora láctica. Os lípidos são outra fonte de uma ampla gama de aromas, por meio da lipólise ou pela oxidação, que são propensos a causar rancidez hidrolítica e oxidativa, respectivamente (Singh *et al.*, 2003; Nollet & Toldrá, 2010).

Os compostos que formam o sabor do leite vão originar outros sabores nos seus derivados, por via da fermentação de lactose e conversão de citrato, da degradação de proteínas ou catabolismo de aminoácidos ou, ainda, pela degradação de lípidos. Os lacticínios fermentados apresentam uma variedade de perfis específicos complexos para formação do *flavour* que pertencem a diferentes classes químicas, tais como, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, lactonas, furanos, compostos contendo nitrogénio, como também, pirazinas e compostos contendo enxofre, terpenos e seus derivados,

compostos aromáticos e ácidos gordos livres (AGL) (Hugenholtz, 1993; Gunasekaran & Ak, 2003; Singh *et al.*, 2003; Nollet & Toldrá, 2010).

A formação do *flavour*, durante o fabrico do queijo inicia-se, imediatamente após a adição de culturas *starter* ao leite. As bactérias lácticas fermentam a lactose em ácido láctico este é o principal aroma de vários queijos. Inicialmente, a lactose é hidrolisada produzindo glucose e galactose. O composto intermédio piruvato também pode ser convertido em diversos compostos de aroma de cadeia curta, como o diacetil, acetona, acetaldeído, etanol e acetato (Hugenholtz, 1993; Nollet & Toldrá, 2010; Fuquay *et al.*, 2011).

Para além disso, outros microrganismos, como os heterofermentativos, apresentam a capacidade de fermentar substratos não carbonatados, tais como o citrato, produção de etanol a partir do acetaldeído, 1,2 – butanediol e diacetil, produzindo um sabor mais amargo (Hugenholtz, 1993; Nollet & Toldrá, 2010).

Os microrganismos não *starter* também fermentam a lactose, produzindo uma variedade de compostos, como o ácido fórmico, dióxido de carbono e hidrogénio. A fermentação butírica origina o 1-butanol, o ácido butírico, a acetona, o 2-propanol e o dióxido de carbono; na fermentação alcoólica forma-se o etanol e o dióxido de carbono (Hugenholtz, 1993; Nollet & Toldrá, 2010).

As matérias-primas importantes para a formação do aroma do queijo incluem os compostos de baixo peso molecular, como o citrato e lactose, mas também as proteínas de alto peso molecular a partir das quais muitos compostos do *flavour* são originários (Fox *et al.*, 2000, 2004; Walstra *et al.*, 2006; Nollet & Toldrá, 2010).

O processo proteolítico é iniciado pela conversão de caseína de grandes péptidos por proteases. As bactérias lácticas produzem peptidases, capazes de degradar os grandes péptidos em oligopéptidos menores e aminoácidos, que contribuem para o sabor doce. Além disso, a conversão dos aminoácidos desencadeia a formação de compostos do *flavour* resultando em vários álcoois, aldeídos, ácidos, ésteres, amins e composto de enxofre (Fox *et al.*, 2000, 2004; Singh *et al.*, 2003; Nollet & Toldrá, 2010).

Estudos realizados sobre os compostos responsáveis pelo aroma característico dos queijos, demonstraram que a degradação de aminoácidos é um processo importante para a sua formação. Os aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina), os aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) e a metionina são os precursores principais destes compostos do aroma. Assim, a monitorização da

degradação dos aminoácidos, durante a maturação, permite o controlo da formação do *flavour* (Singh *et al.*, 2003; Walstra *et al.*, 2006; Nollet & Toldrá, 2010).

Os ácidos gordos provenientes dos aminoácidos de cadeia ramificada, contribuem para os aromas a suado, ranço, fecal, pútrido e semelhantes a ésteres. A conversão dos aldeídos produz álcoois, nomeadamente, o 3-metilbutanol, 2-metilbutanol e 2-metilpropanol, responsáveis por aromas alcoólicos e frutados. A influência destes aromas depende da proporção e concentração dos respectivos compostos na matriz (Wallace & Fox, 1997; Thierry & Maillard., 2002; Nollet & Toldrá, 2010).

A degradação de aminoácidos aromáticos origina compostos responsáveis pelo aroma intenso de diferentes queijos. Estes compostos são o benzaldeído (odor semelhante a amêndoas amargas); fenilacetaldéido (floral, rosa, violeta); o feniletanol (floral, violeta, odor a rosas); acetato de fenil (aroma a mel) e o fenil propanoato (floral). Os aromas desagradáveis são, essencialmente, provenientes do indol, responsável por aromas a podre, fecais e a mofo (Wallace & Fox, 1997; Thierry & Maillard., 2002; Nollet & Toldrá, 2010).

Os ácidos gordos livres são compostos que contribuem para o aroma por si só mas, também, são precursores de reacções catabólicas, produzindo outros compostos aromáticos, tais como, metilcetonas, ésteres e tioésteres, lactonas, aldeídos e álcoois secundários. Do catabolismo dos AGL, as metilcetonas são os compostos mais importantes para muitas variedades de queijos (Singh *et al.*, 2003; Nollet & Toldrá, 2010; Fuquay *et al.*, 2011).

Os ésteres são produtos do catabolismo de ácidos gordos e são formados por reacções entre ácidos gordos de cadeias curta e média com álcoois provenientes da fermentação da lactose ou do catabolismo de aminoácidos (Fox *et al.*, 2000, 2004; Nollet & Toldrá, 2010).

As lactonas estão naturalmente presentes nos queijos, apesar de não serem consideradas de grande relevância para o seu aroma. Os aldeídos também estão presentes em muitos queijos, especialmente o n-nonanal. São, também, considerados compostos transitórios, que rapidamente se reduzem para oxidar álcoois primários ou ácidos correspondentes (Nollet & Toldrá, 2010; Fuquay *et al.*, 2011).

O aroma característico de um queijo é definido pelo equilíbrio dos componentes, sendo controlado por uma ampla gama de parâmetros, nomeadamente, a idade do queijo, a microflora e a reacções bioquímicas (Fox *et al.*, 2000, 2004; Nollet & Toldrá, 2010).

Alguns estudos realizados mostram que, para identificar e/ou quantificar estes compostos voláteis, o método adequado é a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa. O isolamento de compostos a partir da matriz do queijo é feito por *headspace* – microextração em fase sólida (HS – SPME), uma vez que, em comparação com outras técnicas, esta é isenta de solventes, tem um tempo de preparação de amostra reduzido, apresenta alta sensibilidade e um risco limitado de artefactos. Os analitos da amostra são, assim, extraídos directamente da matriz e concentram-se numa fibra revestida de sílica que os adsorve (Frank *et al.*, 2004; Pinho *et al.*, 2001, 2004; Ferreira *et al.*, 2009).

No entanto, têm sido desenvolvidos uma série de métodos de isolamento de voláteis para melhorar a qualidade das análises de sabor, mas nenhum dos métodos de extração comum é capaz de reproduzir fielmente o perfil do aroma (Nollet & Toldrá, 2010).

3.5.2 Parâmetros físicos

3.5.2.1 *Textura*

A textura é uma propriedade extremamente complexa, constituída por diferentes parâmetros interrelacionados entre si. Nos alimentos, os atributos de textura desempenham um papel importante nas decisões de compra e consumo, sendo um dos atributos dominantes na preferência dos consumidores (Gunasekaran & Ak, 2003).

A Organização Internacional de Normalização (ISO, 1992) define textura como o conjunto das propriedades reológicas e atributos estruturais de uma alimento percebidos por meios mecânicos, tácteis e, quando apropriados, os receptores auditivos e visuais (Alvarenga, 2000; Gunasekaran & Ak, 2003).

A textura do queijo pode ser definida como um atributo sensorial composto, resultante da combinação de propriedades físicas, percebida pelo sentido da visão, tacto e audição. As propriedades do queijo que contribuem para a sua textura são divididas em três categorias: i) mecânicas, relacionadas com a reacção do produto a uma pressão, que compreendem a dureza, dimensão, viscosidade, elasticidade e aderência; ii) geométricas, relacionadas com a dimensão, forma e arranjo das partículas no queijo; e iii) de superfície, relacionadas com as sensações, tais como as que são produzidas na cavidade bucal por água e/ou gorduras (Alvarenga, 2000; Fox *et al.*; 2000; Gunasekaran & Ak, 2003).

A textura do queijo depende da composição química e da força das interações entre os elementos estruturais que compõem a sua micro e macroestrutura. As propriedades físicas são influenciadas pela composição inicial do leite, processo tecnológico e condições de maturação. Os factores mais importantes na determinação das propriedades físicas são as condições das partículas de caseína no queijo, como as interações entre as moléculas e a quantidade de cálcio associado a essas partículas, e a extensão da proteólise (Fox *et al.*, 2000; Gunasekaran & Ak, 2003). Segundo Lawrence *et al.* (1987), a textura de um queijo é determinada pelo seu pH e pela relação caseína / humidade.

As características de textura sofrem modificações significativas ao longo da maturação por acção de diversos factores, nomeadamente, o desenvolvimento e actividade microbológica, perda de humidade, actividade enzimática e difusão do sal. A textura do queijo é, por isso, o resultado da organização estrutural dos seus componentes e das alterações que estes sofrem durante a maturação (Eck, 1990; Fox *et al.*, 2000; Gunasekaran & Ak, 2003).

A textura do queijo modifica-se durante a maturação, devido à diminuição da a_w , redistribuição de sal e alterações do pH e pela produção de ácido láctico. A extensão da proteólise, a percentagem de água, proteína, gordura e sal afectam a textura, permitindo obter diferenças entre os diversos tipos de queijo (Fox *et al.*, 2000).

O teor de humidade de um queijo, no início da maturação, depende sobretudo da duração e do processo de dessoramento, para além da temperatura de coagulação e da forma como o sal é adicionado durante o fabrico. A variação do teor de humidade, ao longo da maturação, em função dos factores de variação, tem sido interpretada de um modo integrado relacionando o pH, o teor de sal, a temperatura e a higrometria na sala de maturação. Estes parâmetros e o conteúdo microbiano do queijo explicam a intensidade da degradação da lactose, gordura e proteína, fenómenos degradativos maioritariamente responsáveis pelos atributos sensoriais (Eck, 1990; Fox *et al.*, 2000).

Um teor de humidade elevado (> 38 %) está associado a uma pasta de queijo pouco firme e a excessiva proteólise tendo, como consequência, a formação de compostos de sabor e cheiro desagradável (Fox *et al.*, 2000).

A perda de humidade dos queijos por alterações de temperatura e/ou humidade relativa nas câmaras de cura é também uma das causas da alteração da sua textura (Eck, 1990; Fox *et al.*, 2000).

De acordo com Lawrence *et al.* (1987) ocorrem duas fases distintas no desenvolvimento da textura durante a maturação. A primeira decorre nos primeiros 7 a 14 dias, quando a textura elástica do queijo se converte, rapidamente, numa textura lisa, e num produto mais homogéneo, devido à hidrólise de uma fracção da caseína. Na segunda fase, o relativo abrandamento nas modificações texturais dos queijos é determinado pela taxa de proteólise que, por sua vez, é condicionada, em grande parte, pela razão humidade/sal e actividade da água (a_w).

A concentração de sal é de grande importância na maturação devido à sua influência na actividade proteolítica das enzimas, na especificidade do coalho e no crescimento e actividade das bactérias lácteas (Pinheiro, 2001).

A avaliação da textura pode ser efectuada recorrendo a métodos instrumentais, utilizando testes reológicos, ou métodos sensoriais, nos quais se recorre a painéis de provadores, definição de produtos de referência ou utilização de padrões (Ribeiro, 1998).

O teste de perfil de textura (TPA) é um teste imitativo, caracterizado por duas penetrações na amostra com uma pausa entre elas, simulando a acção de duas dentadas no alimento sendo, também, designado como o teste das duas dentadas (“two bite test”) (Ribeiro, 1998; Machado, 2003).

Da interpretação gráfica do TPA (**figura 10**), obtêm-se parâmetros importantes sobre as propriedades texturais dos alimentos, nomeadamente, a dureza, a adesividade, a coesividade, a elasticidade, a mastigabilidade e a gomosidade (**tabela 1**) (Ribeiro, 1998; Alvarenga, 2000; Machado, 2003; Gunasekaran & Ak, 2003).

Tabela 1 - Descrição resumida dos parâmetros do TPA

Propriedades texturais	Definição
Dureza	Força necessária para obter uma dada deformação (expresso em Newton).
Adesividade	Trabalho necessário para vencer as forças de atracção entre a superfície do alimento e as superfícies com as quais este entra em contacto (área 3, expresso em N.s).
Coesividade	Força das ligações internas que definem a estrutura do alimento (área 2 / área 1, adimensional).
Elasticidade	Capacidade que uma amostra, após deformação, recupera a sua condição inicial quando retirada a força aplicada (distância 2 / distância 1, adimensional).
Gomosidade	É considerado um parâmetro secundário obtido a partir dos parâmetros primários: $gomosidade = dureza \times coesividade$
Mastigabilidade	É considerado um parâmetro secundário obtido a partir dos parâmetros primários: $mastigabilidade = gomosidade \times elasticidade$

Fonte: Ribeiro, 1998; Alvarenga, 2000; Machado, 2003; Nollet & Toldrá, 2010

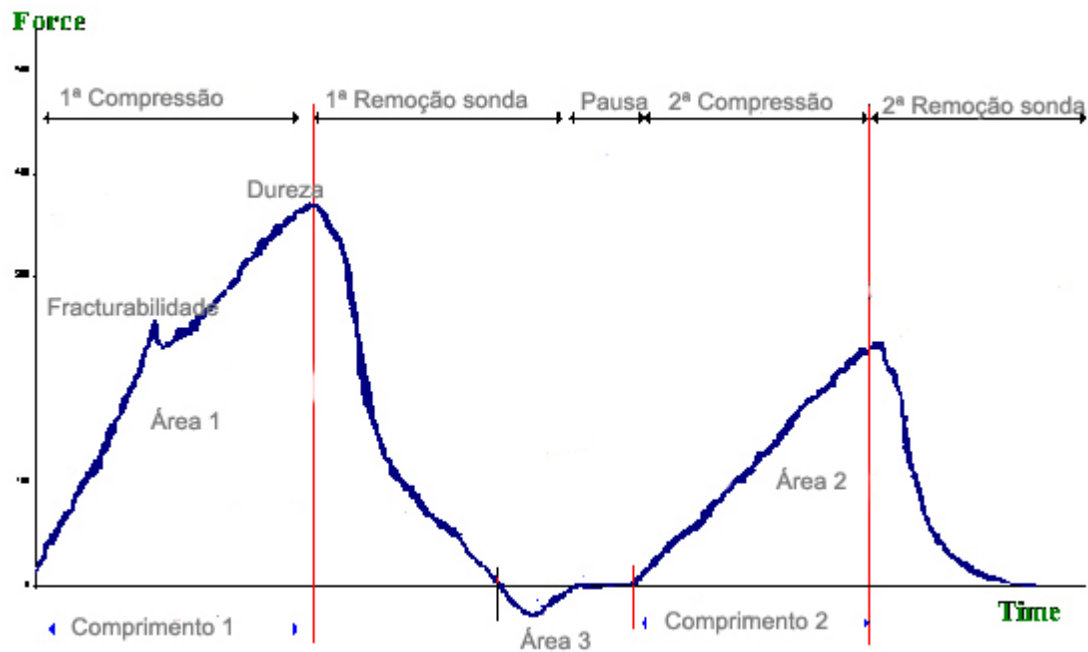


Figura 10 - Representação gráfica esquemática do teste TPA

Fonte: Sousa & Costa, 2008

O parâmetro mais importante da textura, no que diz respeito às preferências dos consumidores, é a dureza. A dureza aumenta com o teor de proteína e pH mas elevados teores de água provocam a sua diminuição, bem como, o aumento do teor de sal no queijo (Ribeiro, 1998; Alvarenga, 2000; Machado, 2003; Nollet & Toldrá, 2010).

Os estudos efectuados por Bryant et al. (1995) citado por Alvarenga (2000) em queijos com diferentes níveis de gordura, mostraram que quando o teor de gordura diminui, aumenta a dureza e a elasticidade, diminuindo a adesividade e a coesividade. Assim, concluiu-se que a dureza aumenta com o aumento dos teores de sal e acidez e diminui com o aumento do teor de gordura.

De uma maneira geral, os factores com maior importância na textura do queijo são o teor de proteínas, o teor em sal, o teor em água, pH e o teor em lípidos (Jesus, 1994).

3.5.2.2 Cor

A cor é uma característica muito importante dos alimentos funcionando, principalmente, como o primeiro índice de qualidade. A cor dos produtos lácteos tem origem, principalmente, em pigmentos lipossolúveis, os carotenóides, obtidos a partir da dieta animal, uma vez que os animais não os sintetizam (Fox & McSweeney, 1998; Fox et al., 2000; Fuquay et al., 2011).

Os carotenóides, pigmentos secundários envolvidos na fotossíntese, são utilizados como pró-vitamina A e armazenados nos tecidos animais, sendo a cor amarelada dependente do teor absorvido de pigmentos. No caso das vacas, estes pigmentos podem ser transferidos do tecido adiposo para o leite, permitindo que os seus produtos sejam mais amarelos que os de cabra e ovelha, que são mais brancos. A cor amarelada do queijo feito a partir do leite de vaca pode tornar, por isso, o produto menos aceitável (Fox & McSweeney, 1998; Fox *et al.*, 2000; Fuquay *et al.*, 2011).

Os carotenóides no leite de vaca podem ser branqueados pelo tratamento com água oxigenada (H_2O_2) ou peróxido de benzoíla ($C_{14}H_{10}O_4$) ou, ainda, pela clorofila ou óxido de titânio (TiO_2), embora não sejam práticas permitidas em muitos países (Fox & McSweeney, 1998; Fox *et al.*, 2000).

Quando, pelo contrário, os consumidores têm preferência por queijos mais amarelados, as cores podem ser intensificadas pela adição de carotenóides sintéticos ou naturais. O corante mais utilizado e adicionado em produtos lácteos é o urucum (E160b) (Fox & McSweeney, 1998; Fox *et al.*, 2000).

Na coalhada são recuperados entre 800 e 950 g/kg dos carotenóides do leite. Em vários estudos realizados, não se observaram alterações consideráveis destes pigmentos durante a maturação ou armazenamento. Também para distintas temperaturas, níveis de acidificação e tempos de maturação, de acordo com as tecnologias de fabrico utilizadas para obtenção de diferentes queijos, a taxa de perda de carotenóides não variou com a tecnologia utilizada, indicando que são pigmentos bastante estáveis (Nollet & Toldrá, 2010; Fuquay *et al.*, 2011).

Os produtos lácteos são expostos à luz natural ou artificial, durante o processamento, distribuição, embalagem, bem como, ao nível do retalho. A exposição à luz induz a degradação de lípidos, proteínas e vitaminas, causando a mudança de cor, que prejudica a qualidade do produtos e a sua comercialização (Nollet & Toldrá, 2010).

A avaliação da cor instrumental no interior da pasta e da crosta de um queijo pode ser feita utilizando o sistema de coordenadas $L^*a^*b^*$, definido pela “Comission Internationale de L'éclairage” – “CIE 1976 $L^*a^*b^*$ Uniform Colour Space”. A coordenada L^* mede a luminosidade, oscilando entre 0 (para o negro) e 100 (para o branco); a coordenada a^* mede as tonalidades vermelha (valores positivos) e verde (valores negativos) e a b^* mede as tonalidades amarela (valores positivos) e azul (valores negativos) (Alvarenga, 2000).

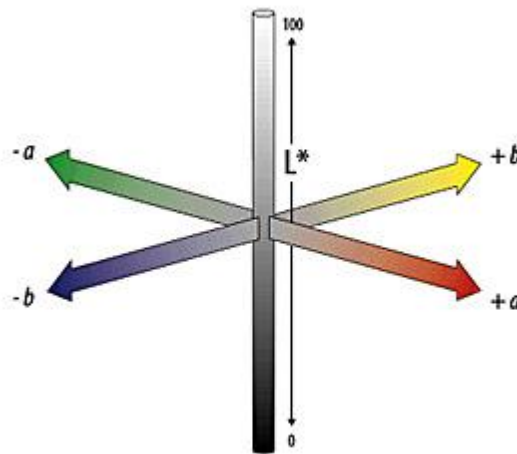


Figura 11 - Espaço uniforme de cor L*a*b*

Fonte: Alvarenga, 2000

A partir dos parâmetros a^* e b^* é possível calcular as coordenadas cromáticas c^* (saturação) e h° (tonalidade). A coordenada cromática c^* é dada pela fórmula:

$$c^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

A coordenada cromática h° é dada pela fórmula:

$$h^\circ = \arctg(b^* / a^*)$$

3.6 Desenvolvimento de metodologias sensoriais para queijos

A análise sensorial é um estudo sistemático das respostas humanas às propriedades físico – químicas dos alimentos. Este estudo compreende a definição e medida dos atributos de um produto que são percebidos pelos sentidos e denominam-se de características sensoriais. Estas podem ser detectadas por um ou mais sentidos.

Tabela 2 - Relação entre os cinco sentidos e as propriedades sensoriais

Propriedade sensorial / sentido	Visão	Olfacto	Gosto	Tacto	Audição
Cor	X				
Aparência	X	X			
Odor		X			
Aroma			X		
Gosto		X	X		
Sabor				X	
Temperatura				X	
Peso				X	X
Textura	X			X	X

Fonte: Canada, 2001

A cor é a única propriedade sensorial que pode ser medida instrumentalmente obtendo um resultado mais fiável do que quando avaliada pela visão. O odor é a percepção do nariz às substâncias voláteis libertadas pelos alimentos, sendo um odor característico compostos por diferentes componentes (Canada, 2001; Clark *et al.*, 2009).

O sabor é percebido pelas papilas gustativas da língua, existindo quatro sabores fundamentais: doce, ácido, salgado e amargo. O sabor é dependente do tempo, uma vez que há uns que se percebem mais rapidamente que outros e podem apresentar persistências diferentes (Canada, 2001; Clark *et al.*, 2009).

O *flavour* está directamente relacionado com os sentidos do gosto e do odor, tendo uma grande importância na avaliação sensorial, sendo o principal componente do sabor. Esta propriedade consiste na percepção das substâncias aromáticas de um alimento, depois de este estar na boca (Canada, 2001; Clark *et al.*, 2009).

A textura é a propriedade sensorial detectada pelos sentidos do tacto, visão e audição, e que se manifesta quando o alimento sofre uma deformação.

A análise sensorial em queijos tem como principais objectivos avaliar a sua qualidade, caracterizar queijos durante o desenvolvimento do produto e testar a sua aceitação no consumidor. No entanto, nem sempre as características desejadas pelos consumidores se correlacionam com as avaliadas pelos provadores treinados (Fox *et al.*, 2000; McSweeney, 2007).

Para determinar o perfil sensorial de um queijo, bem como, a influência de mudanças individuais durante o processamento nas características sensoriais, o método mais adequado é o de análise descritiva. Esta análise consiste na quantificação e intensidade de diferentes descritores, nomeadamente, a identificação de sabores, aromas, texturas, entre outras qualidades (Hui, 1993; Fox *et al.*, 2000; Drake, 2007; McSweeney, 2007). No entanto, de acordo com Fox *et al.* (2004), os termos utilizados para descrever as características de textura, aparência e sabor foram definidos e padronizados de forma objectiva, para que se utilizem termos semelhantes em diferentes avaliações sensoriais, como se pode verificar na literatura do investigador referido.

Esta análise deve ser realizada por um painel de provadores apto para descrever as características do queijo e quantificar os atributos sensoriais de forma adequada, sendo capazes de marcar individualmente a intensidade de cada característica, numa escala linear com um extremo inferior e outro superior. Para atingir um bom nível de objectividade e reprodutibilidade, é necessário um treino intensivo dos provadores com

diversos tipos de queijos, isto é, sujeitos a diferentes processamentos, matérias – primas, fases de maturação, entre outros. Desta forma, é possível o desenvolvimento de produtos inovadores (McSweeney, 2007).

A análise sensorial torna-se mais eficaz quando se valida as relações entre as propriedades sensoriais e químicas, através de medições instrumentais e preferência dos consumidores. A determinação destas relações é uma das aplicações mais importantes, uma vez que este conhecimento pode ser utilizado por investigadores, na área da tecnologia, microbiologia e química. Por exemplo, ao ser conhecida a composição desejada pelos consumidores, o processo de fabrico pode ser optimizado de forma a obter as características pretendidas (Drake, 2007; Fuquay *et al.*, 2011).

A técnica de cromatografia gasosa – olfactometria (GC-O) pode ser usada em complementaridade da análise sensorial, ao distinguir os compostos do aroma e detectar os seus limiares de odor (Fuquay *et al.*, 2011).

Recentemente, têm-se desenvolvido estudos para quantificar, analisar e interpretar as preferências dos consumidores por determinados produtos, através da técnica do mapa de preferência. Esta técnica permite obter uma discriminação entre produtos comparáveis, com base nas diferenças sensoriais intrínsecas, e informações sobre o mercado e desenvolvimento de novos produtos (Drake, 2007; Fuquay *et al.*, 2011).

4. Desenvolvimento Experimental

Como já foi referido, o presente trabalho teve como principal objectivo o desenvolvimento de metodologias analíticas para queijos. Após selecção e implementação das metodologias analíticas físicas, químicas e sensoriais, estas foram testadas em três marcas de queijo de ovelha da Beira Interior.

4.1 Desenvolvimento de metodologias analíticas

4.1.1 Parâmetros químicos

Para a determinação dos parâmetros químicos dos queijos foram seleccionados métodos normalizados, tais como, A.O.A.C, International Standard Methods e Normas Portuguesas, e devidamente validados e reconhecidos pela comunidade laboratorial nacional e/ou internacional (RELACRE, 2000). A utilização de documentos de referência permite, também, salvaguardar níveis de qualidade nos resultados obtidos (Almeida & Pires, 2006).

Seguindo este princípio e tendo em conta as características a analisar nos queijos, os métodos utilizados foram a AOAC 935.43 para a determinação do teor de cloretos (Cl), a NP 3544:1987 na determinação da humidade (H) e a ISO 1444:1996 na determinação do teor de gordura livre (G). Para medir o pH (pH) nos queijos, como não existe nenhum documento normalizado, utilizou-se o procedimento desenvolvido pelo Instituto Adolfo Lutz, 2008.

No entanto, como existem diferentes tipos de queijo e as normas são gerais para estas matrizes, todos os métodos foram previamente testados e adaptados sempre que tal se revelou necessário, como no caso da determinação de cloretos e gordura livre. Os testes de adaptação dos métodos foram realizados com queijos de ovelha curado, com propriedades semelhantes às dos queijos da Beira Interior.

4.1.1.1 *Determinação do pH*

O valor de pH foi determinado por electrometria, segundo o procedimento desenvolvido pelo Instituto Adolfo Lutz de 2008. Deste modo, pesou-se 10 g de amostra para um copo de 250 ml e dilui-se em 100 ml de água desionizada grau 1. Procedeu-se à leitura do pH no medidor portátil de pH WTW, modelo Sentix 41. O

equipamento foi previamente calibrado com padrões comerciais de marca MERK de pH = 4, pH = 7, pH = 10 e de pH = 6,88, para controlo de qualidade.

4.1.1.2 Determinação do teor de cloretos

No que diz respeito à determinação de cloretos, realizaram-se ensaios pelo método de Volhard (AOAC 935.43, 2000) e pelo método de Mohr, adaptado de Nielson (2008). Foram analisadas nove amostras ($n = 9$) e obtiveram-se os resultados apresentados na **tabela 3**.

Tabela 3 -Teor de cloretos (%) pelo método de Volhard e Mohr

Amostra	Método de Volhard (% W_{Cl})	Método de Mohr (% W_{Cl})
1	0,64	1,99
2	0,72	1,98
3	0,64	2,50
4	0,58	1,70
5	0,56	1,70
6	0,73	1,83
7	0,65	1,82
8	0,63	1,75
9	0,62	1,77

Efectuando uma análise de variância dos resultados, verificou-se que estas são significativamente diferentes ($p < 0,01$).

Portanto, para avaliar qual o método que apresentava o teor de cloretos mais ajustado, recorreu-se à quantificação de cloretos por HPLC, no qual se obteve um valor médio de 0,66 %. Assim, e como as médias obtidas pelo método de Volhard e por HPLC não eram significativamente diferentes ($p\text{-value} > 0,05$), foi escolhido o método de Volhard para os testes com queijos da Beira Interior e implementar no laboratório. Este método consiste na titulação do ião prata (Ag^+) em excesso com uma solução padrão de tiocianato, sendo o ponto final indicado pela formação de um complexo corado cor de tijolo.

O teor de cloretos é obtido a partir da fórmula:

$$W_{Cl} (\% \text{ m/m}) = \frac{c \times 5,844 \times (V_B - V_A)}{(m \times 0,5)}$$

em que W_{Cl} é o teor de cloretos da amostra, expresso em cloreto de sódio (% m/m); c é a concentração de nitrato de prata (0,1 N); m é a massa da amostra (g); V_B é o

volume de tiocianato de potássio gasto na titulação do ensaio branco (ml) e V_A o volume de tiocianato de potássio gasto na titulação da amostra (ml).

4.1.1.3 Determinação da humidade

O teor de humidade foi determinado por gravimetria, seguindo a NP 3544 de 1987. A amostra foi seca numa estufa a 101 ± 1 °C durante 4 h, com areia previamente tratada com ácido clorídrico. Posteriormente, foram feitas secagens sucessivas durante 1h30, até que duas pesagens não diferissem mais de 0,5 mg ou houvesse aumento de massa.

O teor de humidade (W_M), expresso em % m/m, é obtido pela aplicação da fórmula:

$$W_M (\% \text{ m/m}) = \frac{(m_1 - m_2)}{(m_1 - m_0)} \times 100$$

m_0 é a massa, em grama, da cápsula com areia e vareta; m_1 é a massa, em grama, da cápsula com areia, vareta e toma da amostra; e m_2 é a massa, em grama, da cápsula com areia, vareta e toma da amostra após secagem.

4.1.1.4 Determinação do teor de gordura livre

Na determinação do teor de gordura livre, foi necessário recorrer a uma ISO (1444:1996) referente a carne e produtos cárneos, pois o laboratório não possuía o material necessário para seguir a ISO 1736:2004 *Cheese and processed cheese products – Determination of fat content – Gravimetric method (reference method)*.

Para verificar se o método referente a carne e produtos cárneos (ISO 1444:1996) permitia obter resultados aceitáveis, realizaram-se ensaios de extração por Soxhlet em nove amostras ($n = 9$). O teor de gordura livre obtido foi em média de 50 %, estando contido no intervalo de valores presente no rótulo (45 – 60 % M.G.E.S.).

A análise dos resultados permitiu concluir que a metodologia tratada se adequa ao caso dos queijos.

Assim, a determinação do teor de gordura livre foi efectuada segundo a ISO 1444 de 1996, por extração sólido-líquido, num Soxtec Avanti 2050 de marca TECATOR. A amostra utilizada foi o resíduo seco, proveniente da determinação do teor de humidade e o solvente foi o éter de petróleo. O resíduo seco foi colocado no Soxtec, durante 2 h. Depois da extração, as cápsulas com a gordura foram secas numa

estufa a 103 ± 2 °C durante 1 h, repetindo o processo de secagem até que as pesagens sucessivas não diferissem entre si mais de 1 % da massa da amostra. O teor de gordura livre (W_F), expresso em % m/m, é dado pela fórmula:

$$W_F (\% \text{ m/m}) = \frac{(m_2 - m_1)}{m_0} \times 100$$

m_0 é a massa, em gramas, do resíduo seco; m_1 é a massa, em gramas, da cápsula seca; e m_2 é a massa, em gramas, da cápsula com gordura, após secagem.

4.1.2 Análise do perfil aromático

Os compostos voláteis foram analisados por cromatografia gasosa, num cromatógrafo HP6890, utilizando uma coluna capilar HP5-MS com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e espessura de filme de 0,25 μm , com um detector de massa Agilente 5973. Para a extracção e introdução das amostras foi utilizado um amostrador automático CombiPal equipado com um módulo para a microextracção em fase sólida (SPME).

Para esta determinação, pesaram-se 3 g de amostra para viais de 20 ml ($n = 9$), que foram colocados a 30 °C, durante 15 min, com o objectivo de estabilizar os compostos voláteis no *headspace*. Com a técnica de SPME os compostos voláteis presentes nas amostras fixam-se sobre um adsorvente específico (fibra PDMS/DVB, de 65 μm). A adsorção é realizada sem agitação, durante 120 min (Frank *et al.*, 2004).

Depois do processo concluído, a fibra foi inserida no injector do GC a 270 °C, durante 5 min em modo splitless, para ocorrer a dessorção dos compostos. As condições experimentais foram: temperatura do forno 40 °C durante 5 min, seguindo-se uma rampa de 4 °C/min até à temperatura de 190 °C, mantendo-se esta durante 5 min. Por fim, a temperatura aumenta até aos 200 °C, com uma rampa de 5 °C/min, permanecendo assim durante 5 min. Foi utilizado hélio como gás de arraste, com um fluxo de 1 ml/min. As condições foram estabelecidas com base em Frank *et al.*, 2004, Vítová *et al.*, 2006 e Ferreira *et al.*, 2009.

A identificação dos compostos efectuou-se através da comparação dos espectros obtidos experimentalmente e espectros de compostos já identificados (Pérès *et al.*, 2001, Pinho *et al.*, 2003), posteriormente, realizou-se a integração dos picos identificados para obtenção das áreas correspondentes.

Para a quantificação de alguns dos compostos identificados (ácido hexanóico, ácido octanóico, ácido decanóico, 2 – heptanona, etil butanoto e etil hexanoato), realizou-se uma recta de calibração de concentrações conhecidas entre 0,5 – 20 mg/l.

4.1.3 Parâmetros físicos

4.1.3.1 Determinação da textura

Para a análise de textura, como o laboratório ainda não possuía texturómetro os testes foram realizados no ISA, tendo sido realizado um teste de análise do perfil de textura (TPA) (Fragan *et al*, 2007). Foram analisadas nove amostras de queijo sem casca (n = 9) de cada marca, em forma de cubos, com 20 mm de lado. O texturómetro utilizado foi o *TA-XT Plus Texture Analyser* (Stable Micro Systems, UK), com uma célula de carga de 5 kg e uma sonda cilíndrica de 9 mm. As amostras foram comprimidas axialmente a 50 % da sua altura original, a uma velocidade de 1 mm/s e, entre cada ciclo, com um tempo de repouso de 3 seg (Alvarenga, 2000).

A partir da curva obtida (força vs tempo) foi possível determinar a dureza, adesividade, coesividade, elasticidade, mastigabilidade e gomosidade.

4.1.3.2 Determinação objectiva da cor

Na determinação da cor, analisaram-se nove amostras de queijo sem casca (n = 9) de cada marca e utilizou-se o colorímetro MINOLTA CR 300 para a medição dos parâmetros CIE $L^*a^*b^*$. A coordenada L^* traduz a variação da tonalidade claro/escuro, variando entre 0 (escuro) e 100 (claro), a componente a^* varia entre -60 (verde) e +60 (vermelho) e a componente b^* varia entre -60 (azul) e +60 (amarelo) (Alvarenga, 2000).

A partir dos parâmetros a^* e b^* procedeu-se ao cálculo das coordenadas cromáticas c^* (saturação) e h° (tonalidade).

A coordenada cromática c^* é dada pela fórmula:

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}$$

A coordenada cromática h° é dada pela fórmula:

$$h^\circ = \arctg (b^* / a^*)$$

4.1.4 Análise Sensorial

Atendendo a que um dos objectivos do presente trabalho era a implementação de uma sala de provas e selecção/treino de um painel de provadores, o que não foi possível em tempo útil, procedeu-se a um primeiro rastreio utilizando um painel não treinado de 60 provadores, de idades compreendidas entre os 17 e os 59 anos.

A avaliação sensorial decorreu em duas sessões. Em Lisboa, utilizou-se a sala concebida para provas organolépticas do Instituto Superior de Agronomia. Na Covilhã, as provas foram realizadas numa sala improvisada, na qual se tentou reduzir os interferentes que pudessem influenciar a avaliação dos provadores (luz, ruído, cheiro, etc.).

A análise sensorial foi realizada de acordo com a ficha de prova apresentada no Anexo 1, tendo por base o método de análise descritiva.

As amostras de queijo foram codificadas de maneira uniforme, utilizando dois números e uma letra, escolhidos aleatoriamente. Colocou-se à disposição dos provadores água e maçã, para efectuar a lavagem da boca e evitar a fadiga.

A cada provador foram apresentadas três amostras, sendo solicitado que classificasse numa escala de 0 - 5 atributos associados à cor, cheiro, gosto e textura.

Quanto à cor, o atributo correspondente era a cor característica (CC); no cheiro, os atributos eram a intensidade do cheiro (IC), cheiro a ranço (CR), cheiro a frutado (CF), cheiro a lácteo (CL), cheiro a chulé (CCh); o gosto era avaliado pela intensidade do gosto (IG), gosto salgado (GS), gosto ácido (GA), gosto picante (GP), gosto a ranço (GR); e a textura era analisada pela textura firme (TF), textura granulosa (TGran), textura pegajosa (TP) e textura amanteigada (TA)

4.2 Estudo de Caso: aplicação das metodologias analíticas a queijos da Beira Interior

4.2.1 Amostragem

Para o presente estudo foram seleccionadas três marcas de queijo de ovelha curado da região da Beira Interior. Todas as amostras eram do mesmo lote e foram adquiridas numa superfície comercial.

Em cada caso, foram adquiridos três queijos de aproximadamente 500 g e estudados em diferentes planos de amostragem. No caso das análises químicas realizaram-se dois ensaios de cada queijo em triplicado ($n = 18$) e nas determinações dos compostos voláteis, textura e cor realizou-se um ensaio de cada queijo em triplicado ($n = 9$).

As amostras foram mantidas a temperaturas próximas de 4 °C até serem analisadas. Antes de cada ensaio, removeu-se uma porção superficial, correspondente à casca, de aproximadamente 0,3 cm. A colheita das amostras foi feita por corte (**figura 12**) (NP 4146, 1991).

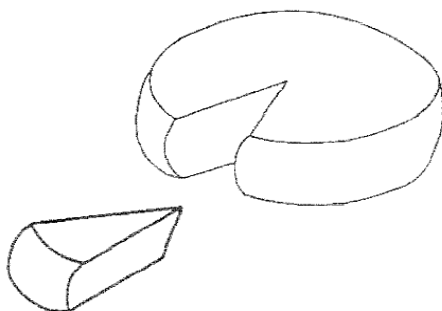


Figura 12 - Colheita de amostra

4.2.2 Tratamento estatístico dos resultados

Os resultados obtidos nos métodos desenvolvidos foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA), utilizando o software Statistica V.7.0 (Statsoft, 2004).

No tratamento dos resultados, realizou-se um teste de Tukey a todos os parâmetros químicos e físicos, para verificar a existência de diferenças significativas entre as médias dos queijos da mesma marca e de diferentes marcas.

Com o objectivo de efectuar uma abordagem conjunta, procedeu-se à análise multivariada de Cluster e uma análise de componentes principais.

Todos os testes foram feitos com um nível de confiança de 95 %.

5. Resultados e Discussão

5.1 Parâmetros Químicos

Os resultados obtidos para a composição bruta dos queijos são apresentados na **tabela 4**.

Tabela 4 – Médias dos resultados dos parâmetros químicas dos queijos

Queijo	pH	Teor de cloretos - Cl (%)	Teor de humidade - H (%)	Teor de gordura - G (%)
Marca1, queijo1 (M11)	5,58 ± 0,04	1,88 ± 0,02	38,2 ± 0,1	48,8 ± 0,4
Marca1, queijo2 (M12)	6,28 ± 0,09	1,99 ± 0,04	42,6 ± 0,4	54,3 ± 1,0
Marca1, queijo3 (M13)	5,91 ± 0,05	1,96 ± 0,02	40,4 ± 0,4	50,5 ± 1,1
Marca2, queijo1 (M21)	5,82 ± 0,06	3,04 ± 0,11	38,1 ± 0,5	55,2 ± 0,8
Marca2, queijo2 (M22)	6,04 ± 0,03	2,90 ± 0,05	37,9 ± 0,2	53,6 ± 2,5
Marca2, queijo3 (M23)	5,85 ± 0,03	3,60 ± 0,06	34,6 ± 1,4	47,4 ± 0,8
Marca3, queijo1 (M31)	5,33 ± 0,02	2,35 ± 0,03	36,7 ± 1,1	41,4 ± 2,1
Marca3, queijo2 (M32)	5,51 ± 0,05	2,40 ± 0,03	46,3 ± 0,5	39,1 ± 2,7
Marca3, queijo3 (M33)	5,54 ± 0,03	2,42 ± 0,08	42,7 ± 0,4	37,2 ± 2,1

Analisando os resultados, observa-se que os valores de pH variam entre 5,33 e 6,28, o teor de cloretos entre 1,88 e 3,60 %, o teor de humidade apresenta valores entre 34,6 e 46,3 % e o teor de gordura varia entre 37,2 e 55,2 %. Estes valores estão de acordo com os obtidos por estudos efectuados anteriormente, considerando diferentes variedades de queijos (Hort *et al.*, 1997; Canada, 2001; Lawor *et al.*, 2001).

5.1.1 Comparação de resultados dos parâmetros químicos entre queijos da mesma marca

Os resultados foram sujeitos ao tratamento estatístico ANOVA, sendo analisados pela comparação de médias a partir do teste de Tukey.

Através dos resultados obtidos, os queijos da marca 1 demonstram uma grande heterogeneidade entre as amostras, uma vez que para três dos quatro parâmetros são significativamente diferentes ($p < 0,05$), excepto quando se compara o teor de cloretos

entre o M12 e M13, onde mostram ser queijos estatisticamente semelhantes ($p > 0,05$) (anexo II.I, tabela 7).

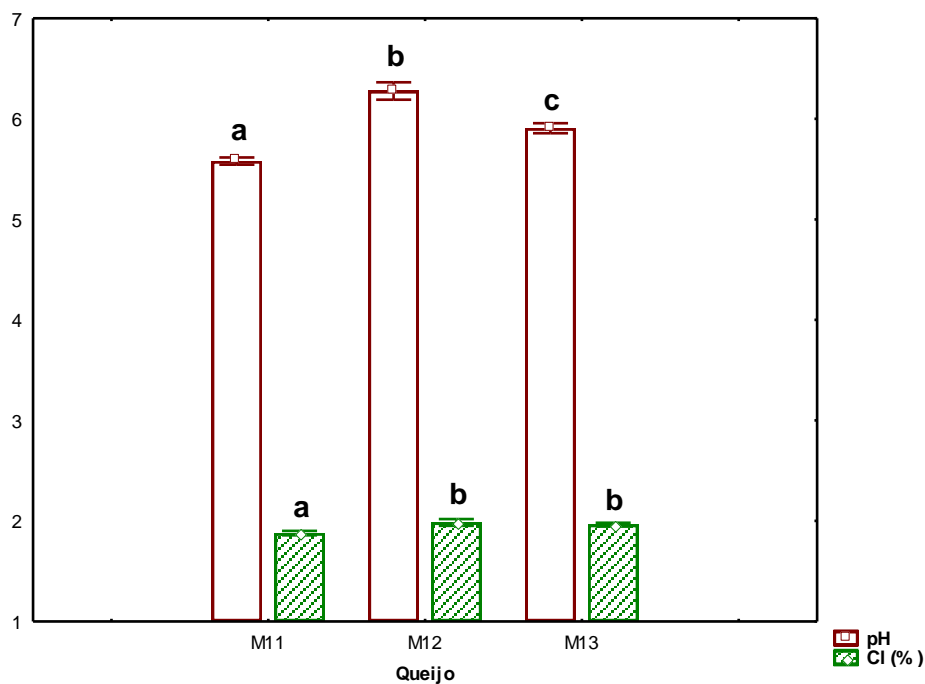


Figura 13 - Comparação do pH e teor de cloretos entre queijos da marca 1

Analisando o gráfico da **figura 13**, observa-se que as amostras diferem todas entre si ($p < 0,05$), excepto o M12 e M13 para o teor de cloretos, como já tinha sido referido.

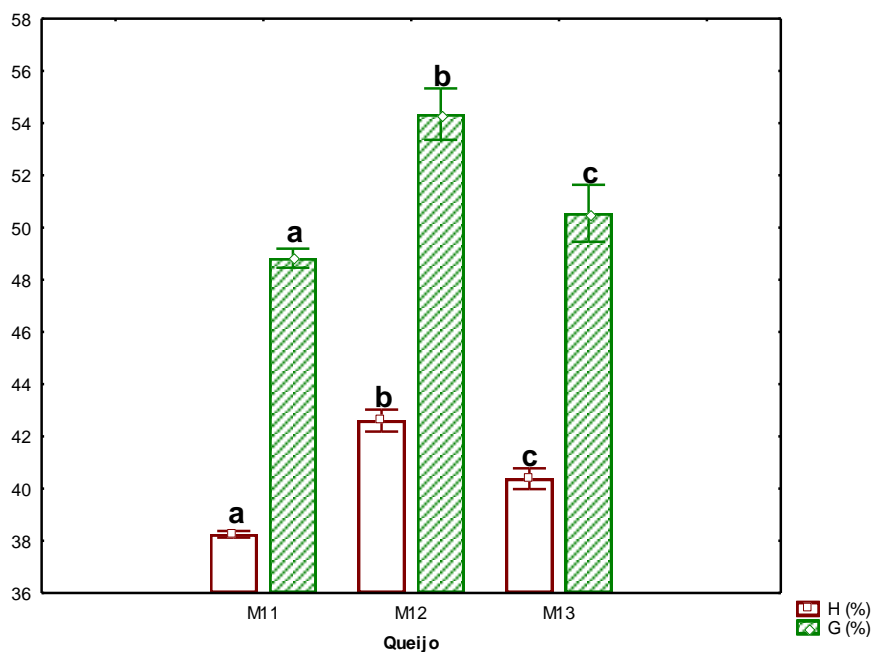


Figura 14 - Comparação do teor de humidade e gordura entre queijos da marca 1

Para os teores de humidade e gordura (**figura 14**), as amostras são diferentes entre si. No entanto, para os diferentes parâmetros, os valores de desvio padrão obtidos são

baixos, significando que os métodos aplicados apresentam uma elevada reprodutibilidade.

Os queijos da marca 2 também apresentam alguma heterogeneidade, uma vez que há amostras estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) entre si (anexo II.I, tabela 8).

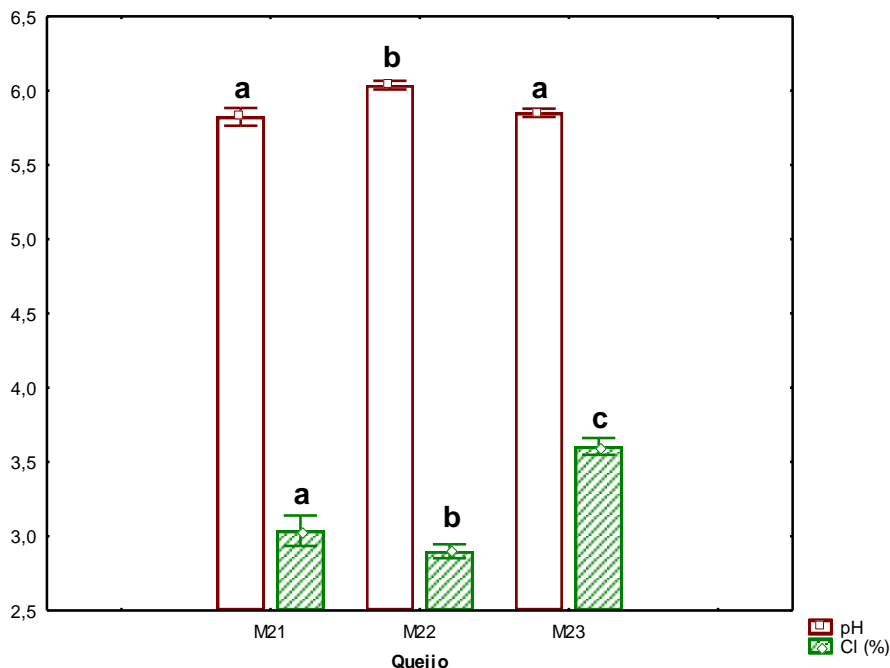


Figura 15 - Comparação do pH e teor de cloretos entre queijos da marca 2

No entanto, observando o gráfico presente na **figura 15**, é possível verificar que os queijos M21 e M23 são significativamente semelhantes entre si ($p > 0,05$) para o pH. Para o teor de cloretos, são todos estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

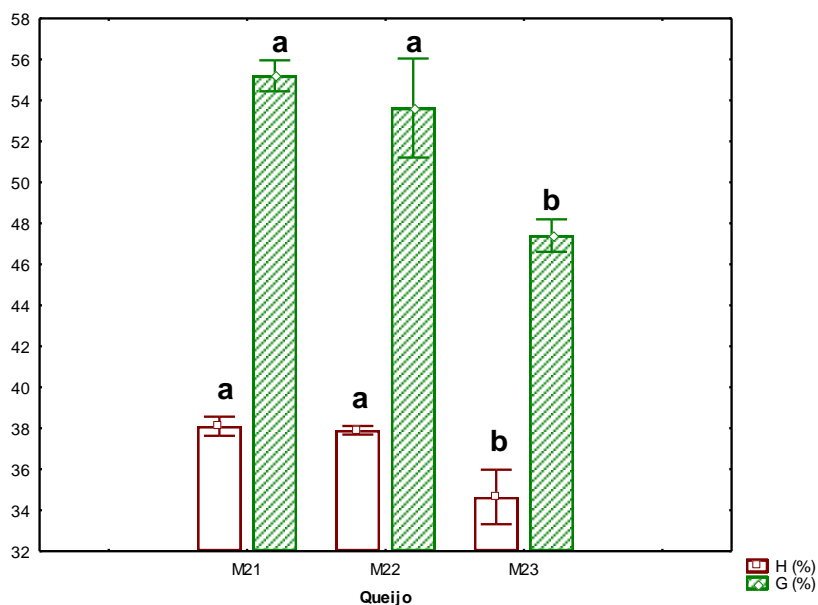


Figura 16 - Comparação do teor de humidade e gordura entre queijos da marca 2

Quanto aos teores de humidade e gordura (**figura 16**), os queijos M21 e M22 são estatisticamente semelhantes, uma vez que apresentam um $p > 0,05$ para ambos os casos. O M23 não apresenta qualquer tipo de semelhança com os outros queijos ($p < 0,05$) em nenhum dos parâmetros em análise.

Contudo, os valores do desvio padrão são baixos, o que representa grande reprodutibilidade dos métodos.

Os queijos da marca 3 apresentam alguma homogeneidade entre as amostras, principalmente, no teor de cloretos, no qual são todas estatisticamente semelhantes entre si ($p > 0,05$) (anexo II.I, tabela 9).

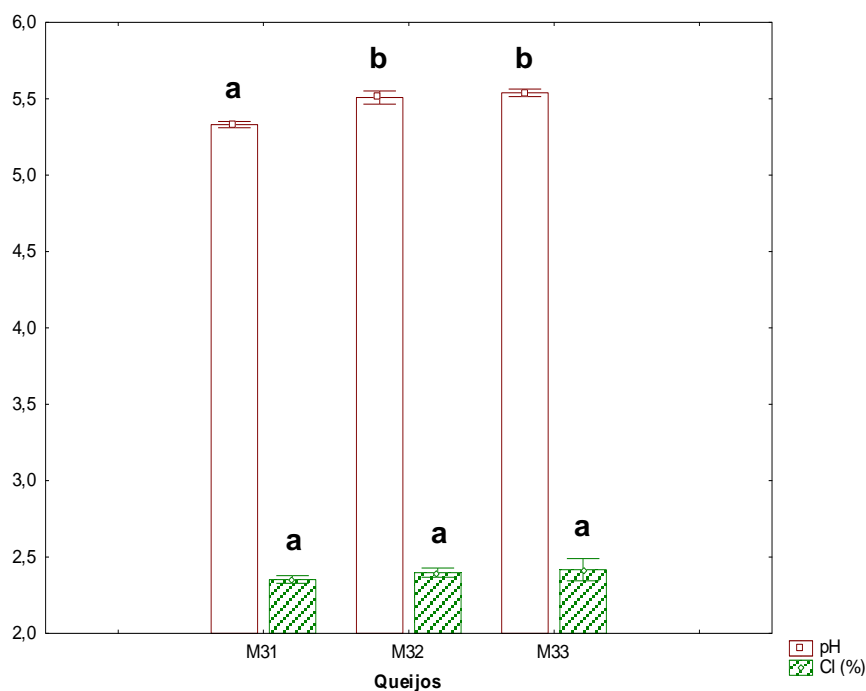


Figura 17 - Comparação do pH e teor de cloretos entre queijos da marca 3

Como se pode verificar pelo gráfico da **figura 17**, para o pH, o M31 é significativamente diferente do M32 e M33 ($p < 0,05$), uma vez que estes são estatisticamente semelhantes entre si ($p > 0,05$). Quanto ao teor de cloretos, como já foi referido, os queijos são todos estatisticamente semelhantes entre si ($p > 0,05$).

No que diz respeito ao teor de humidade, observando o gráfico da **figura 18**, verifica-se que os queijos são todos estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$). Analisando o teor de gordura, o M31 é estatisticamente semelhante ao M32 ($p > 0,05$) e significativamente diferente do M33 ($p < 0,05$). No entanto, o M32 e M33 são estatisticamente semelhantes entre si ($p > 0,05$).

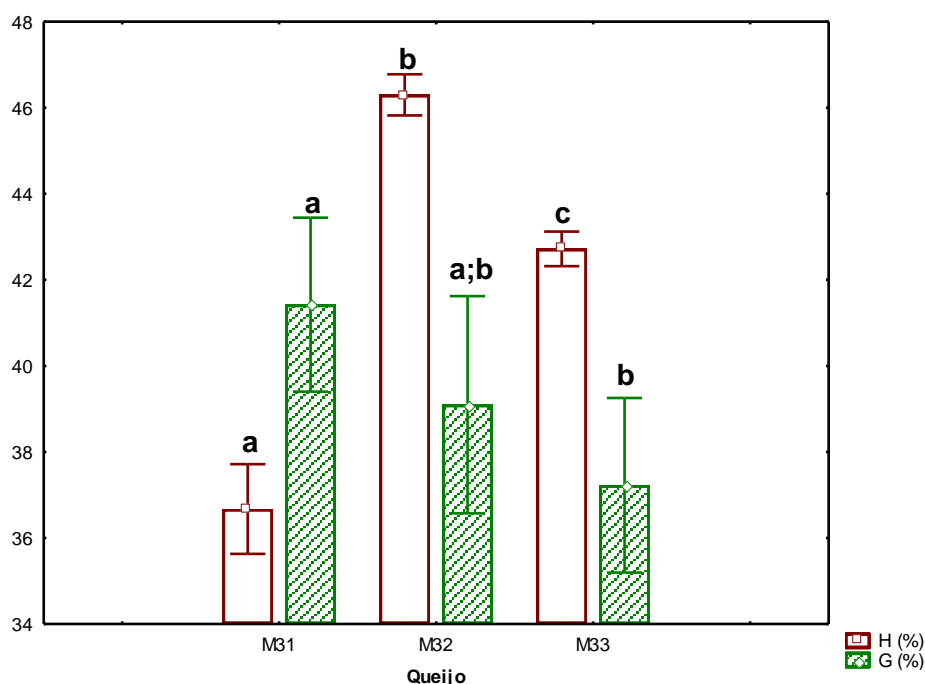


Figura 18 - Comparação do teor de humidade e gordura entre queijos da marca 3

Quanto aos desvios padrão, apresentam valores pequenos, demonstrando uma reprodutibilidade elevada das metodologias aplicadas.

De uma maneira geral, os queijos nas três marcas apresentam alguma heterogeneidade entre si. Esta pode ser explicada por variabilidades inerentes à matéria – prima e processo tecnológico, uma vez que as metodologias desenvolvidas apresentam uma elevada reprodutibilidade, pois os desvios padrão obtidos são relativamente pequenos.

Quanto aos parâmetros analisados, verifica-se que são queijos pouco ácidos (valores de pH próximos de 6) e relativamente salgados (teor de cloretos superior a 2 %). De acordo com a classificação disponível em bibliografia (Belitz *et al.*, 2009), são considerados queijos duros e gordos, pois apresentam teores de humidade inferiores a 51 % e de gordura superior a 40 %, respectivamente.

5.1.2 Comparação de resultados dos parâmetros químicos entre marcas diferentes

5.1.2.1 Composição química

Comparando as marcas analisadas, verifica-se alguma semelhança em determinados parâmetros.

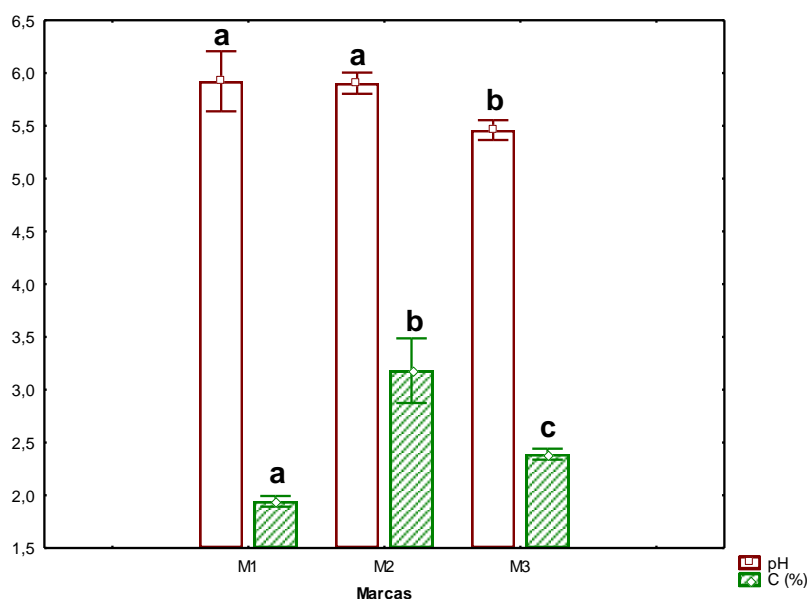


Figura 19 – Comparação do pH e teor de cloretos entre marcas

Observando o gráfico da **figura 19**, e de acordo com o anexo II.II (tabela 10), as marcas 1 e 2 são estatisticamente semelhantes ($p > 0,05$) para os valores de pH, sendo significativamente diferentes ($p < 0,05$) quando comparadas, individualmente, com a M3. No entanto, para o teor de sal, as amostras são significativamente diferentes entre si ($p < 0,05$).

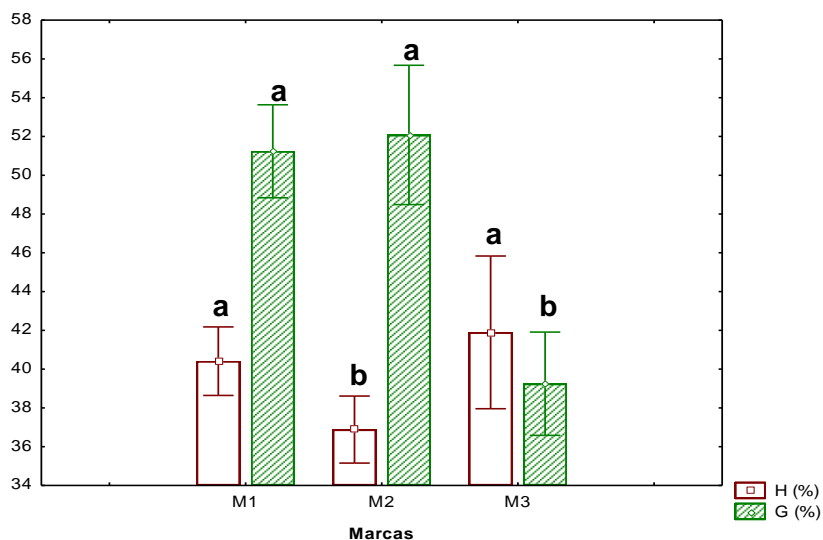


Figura 20 - Comparação do teor de humidade e gordura entre marcas

Analisando o gráfico da **figura 20**, em concordância com o anexo II.II (tabela 10), verifica-se que a M1 é estatisticamente semelhante ($p > 0,05$) à M3 para o teor de humidade e à M2 para o teor de gordura. Comparando a M2 e a M3 são significativamente diferentes ($p < 0,05$) para ambos os parâmetros.

De uma maneira geral, apenas a M1 apresenta algumas semelhanças com M2 e M3, uma vez que estas, quando comparados entre si, são estatisticamente diferentes ($p > 0,05$).

Quanto aos parâmetros químicos, a marca 1 é o que apresenta o maior valor de pH, sendo que a M3 apresenta um pH mais ácido, que pode ser devido à elevada produção de ácido láctico. Os valores de pH distintos indiciam que as marcas podem ter sido sujeitas a tempos de cura diferentes (Canada, 2001).

Para o teor de cloretos, existem valores bastante distintos, sendo a M2 a marca mais salgada, pois apresenta o maior valor. Esta diferença entre marcas pode ser resultado da aplicação de diferentes métodos de salga disponíveis, bem como, pela adição de distintas quantidades de sal (Canada, 2001).

No que diz respeito aos teores de humidade e gordura, as três marcas correspondem a queijos duros ($W_M < 51\%$) e gordos ($W_F > 40\%$), sendo a M2 a que apresenta menor teor de humidade e a M3 o menor teor de gordura.

O teor de humidade é influenciado pelo sistema de cura (natural ou controlada) e pelo período de maturação, sendo que a M2 pode ter sido sujeita a um maior tempo de maturação, uma vez que apresenta o teor de humidade mais reduzido (Canada, 2001).

Quanto ao teor de gordura, a M3 apresenta um valor médio inferior aos valores de referência (45 – 60 %), no entanto é semelhante aos obtidos em estudos realizados anteriormente. Contudo, o menor teor de gordura pode estar associado a um teor de humidade mais elevado.

Assim, como referido no ponto 3.5.1, verifica-se que quanto maior o teor de sal, menor o teor de humidade e maior o teor de gordura, situação verificada pela M2.

5.1.2.2 *Composição volátil*

No que diz respeito ao perfil volátil, foram identificados 35 compostos pertencentes a diferentes famílias químicas, nomeadamente, ácidos, álcoois, cetonas, aldeídos, ésteres e hidrocarbonetos. As famílias que apresentaram mais compostos identificados foram a dos ácidos (9), álcoois (7) e cetonas (8) (**tabela 5**).

De uma maneira geral, tendo em conta a variedade de compostos aromáticos já identificados em queijo (mais de 200), a maturação destes queijos pode ter sido curta, uma vez que nas amostras foram identificados poucos compostos (Canada, 2001).

Tabela 5 - Compostos voláteis identificados nos queijos das diferentes marcas

Famílias	Compostos
Ácidos	Ácido acético; Ácido propanóico; Ácido 3-metilbutanóico; Ácido 2-metil butanóico; Ácido Pentanóico; Ácido hexanóico; Ácido octanóico; Ácido nonanóico; Ácido decanóico
Álcoois	1-butanol; 3-Metil-1-butanol; 2-Butanol-3-one; 2,3 – Butanodiol; 2-heptanol; 2-Etil-1-Hexanol; 1-Octeno-3-ol
Cetonas	2-Propanona; 2,3-Butanodiona; 2-Butanona; 1-Hidroxi-2-Propanona; 3-Hidroxi-2-Butanona; 2-Heptanona; 2- Octanona; 2- Nonanona
Aldeídos	3-Metilbutanal; 2-Metilbutanal; Benzaldeido; Benzeneacetaldeide; Nonanal
Esteres	Etil etanoato; Etil butanoato
Hidrocarbonetos	2,3-Dimetilbutano; Hexano; Etilbenzeno; Decano
Outros compostos	Feniletanol

Os compostos identificados podem ter diferentes origens, de uma maneira geral, os álcoois primários são formados pela redução dos aldeídos e os secundários resultam da redução enzimática das metil cetonas correspondentes. Neste sentido, o 2 – butanol provêm da redução da 2 – butanona (Izco & Torre, 2000; Vitová *et al.*, 2006; Delgado *et al.*, 2010).

Os ácidos de cadeia linear (butanóico, pentanóico, hexanoico, heptanóico, octanóico e decanóico) resultam da actividade lipolítica das enzimas estereases e lipases, que actuam durante a lipólise (Vitová *et al.*, 2006; Delgado *et al.*, 2010).

O ácido acético resulta de diferentes reacções pela acção de bactérias lácticas, nomeadamente, pela fermentação do ácido láctico e da lactose. O ácido propanóico tem origem no metabolismo do lactato pela *Propionibacterium sp.* O ácido 3-metilbutanóico resulta da desaminação do aminoácido leucina e, a partir da sua oxidação, obtém-se o 3 – metilbutanal. (Izco & Torre, 2000; Delgado *et al.*, 2010).

No que diz respeito aos ésteres, estes têm como principal origem a esterificação entre os ácidos gordos de cadeia média ou curta e os álcoois. Os aldeídos podem resultar da β – oxidação dos AG insaturados ou da degradação dos aminoácidos; enquanto os hidrocarbonetos são os produtos secundários da auto-oxidação lipídica (Vitová *et al.*, 2006).

Particularmente, a 2,3 – butanediona é formada pelo metabolismo da lactose e citrato, devido à actividade das bactérias lácticas. Pela sua redução, obtém-se o 2,3 – butanediol (Vitová *et al.*, 2006).

Dos compostos quantificados, verifica-se que as concentrações entre marcas são diferentes (**tabela 6**).

Tabela 6 - Quantificação dos compostos voláteis nos queijos das diferentes marcas

Compostos	M1 (mg/kg)	M2 (mg/kg)	M3 (mg/kg)
Etil Butanoato	0,83	< 0,5 (l.q.)	< 0,5 (l.q.)
2 – Heptanona	1,00	1,50	0,76
Ácido Hexanóico	1,23	1,38	1,06
Ácido Octanóico	1,15	0,91	1,32
Ácido Decanóico	1,24	0,97	1,14

l.q – limite quantificável

A marca 1 apresenta uma maior concentração de etil butanoato e de ácido decanóico. O éster contribui para aromas como a doces e frutados, enquanto o ácido se relaciona com o aroma rançoso.

Os compostos presentes em maior concentração na marca 2 são a 2 – heptanona e o ácido hexanóico. Alguns dos aromas provenientes destes compostos são, essencialmente, frutados, florais e picantes, identificando, também, aromas a queijos rochefort e de cabra.

A marca 3 tem uma concentração mais elevada para o ácido octanóico, que pode contribuir para o aparecimento de aromas a mofo, ranço e caprinos.

De uma maneira geral, a marca 1 é a que tem maior quantidade de ácidos gordos. As diferentes concentrações podem estar associadas a uma lipólise mais intensa, relativamente às outras marcas, a distintos perfis microbianos (afectam as características intrínsecas de lipases), a diferentes temperaturas de maturação, pH, teores de sal e humidade (afectam a actividade das lipases) (Canada, 2001).

5.1.3 Análise de *Cluster* aos parâmetros químicos

Os resultados obtidos foram submetidos a uma análise *Cluster* com o objectivo de agrupar as amostras homogéneas em função dos parâmetros químicos, tendo por base uma análise factorial. De acordo com esta análise, as variáveis principais que

constituem os factores de agrupamento são o pH, teor de cloretos e teor de gordura, uma vez que o teor de humidade é uma variável suplementar (anexo III, tabela 11).

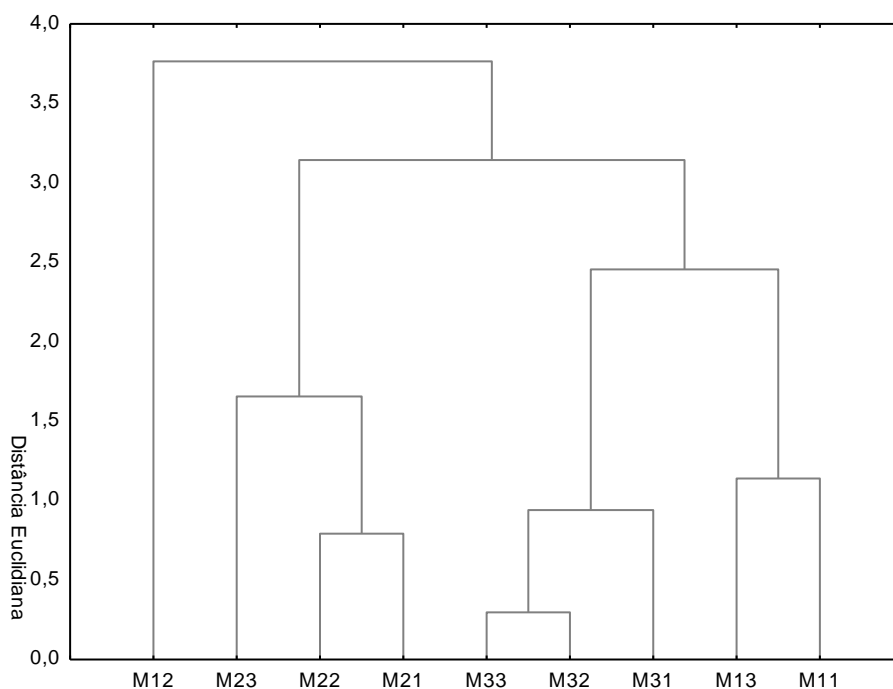


Figura 21 – Dendrograma das amostras

O dendrograma da **figura 21** representa uma árvore hierárquica dos queijos das três marcas, agregados de acordo com o *Complete-Linkage Method*, tendo como critério de agregação os parâmetros químicos. A interpretação do dendrograma é feita pela distância euclidiana (*linkage distance*), neste caso, considera-se que quanto maior for a distância que separa as classes, mais diferentes são as amostras.

Analisando a distância euclidiana (anexo III, tabela 12), verifica-se que os queijos mais distantes são o M12 e o M33, pois apresentam uma maior distância entre si (3,62), significando que são os queijos mais diferentes. No entanto as marcas 2 e 3 formam classes que agrupam todos os seus queijos, sendo que os mais semelhantes são os M22 e M21 (0,79) e os M33 e M32 (0,30), que formam classes diferentes do M23 e do M31, respectivamente.

Desta análise, observa-se que os queijos das marcas 2 e 3 são mais homogêneos, uma vez que formam classes de agrupamento entre si.

5.2 Parâmetros físicos

5.2.1 Comparação de parâmetros da cor entre marcas diferentes

Analisando os resultados do anexo IV.I, tabela 13, verifica-se que as marcas apresentam algumas diferenças entre si.

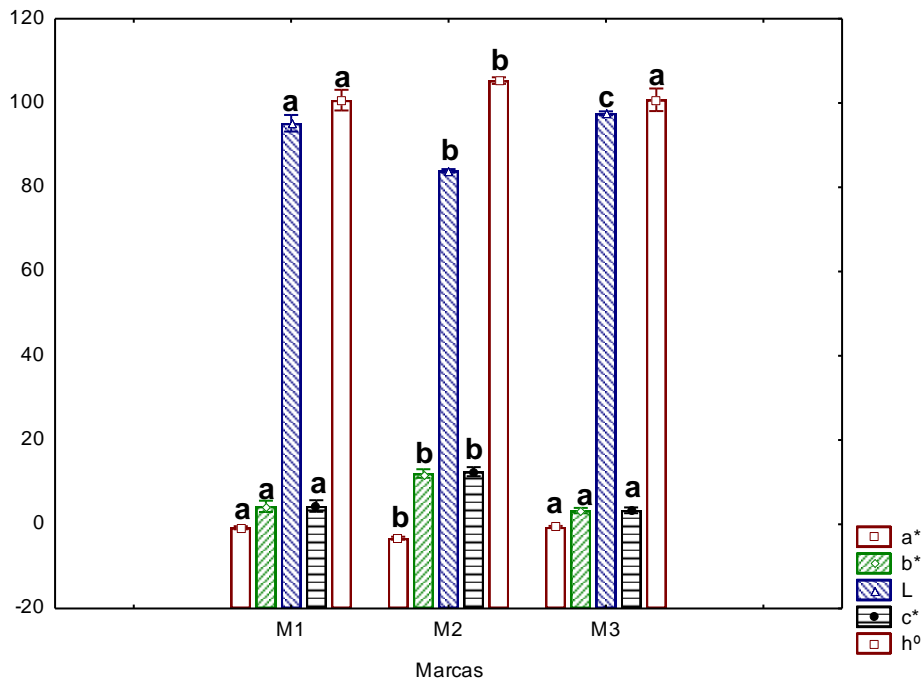


Figura 22 - Comparação dos parâmetros da cor entre marcas

A partir do gráfico da **figura 22**, observa-se que apenas as marcas 1 e 3 apresentam algumas semelhanças estatísticas entre si ($p > 0,05$), nomeadamente, para as coordenadas a^* e b^* e para os parâmetros de saturação e tonalidade. Para o parâmetro de luminosidade, as marcas são todas estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) o que se verifica, também, para a marca 2, quando comparada com as restantes.

Tendo em conta os valores obtidos, verifica-se que a M3 é a mais clara, pois o parâmetro L^* é superior. A M2 é a que têm uma componente mais amarela, uma vez que têm o maior valor de b^* (Bessa *et al.*, 2006).

5.2.2 Comparação de parâmetros da textura entre marcas diferentes

No que diz respeito aos parâmetros da textura (anexo IV.II, tabela 14), as marcas são bastante diferentes entre si.

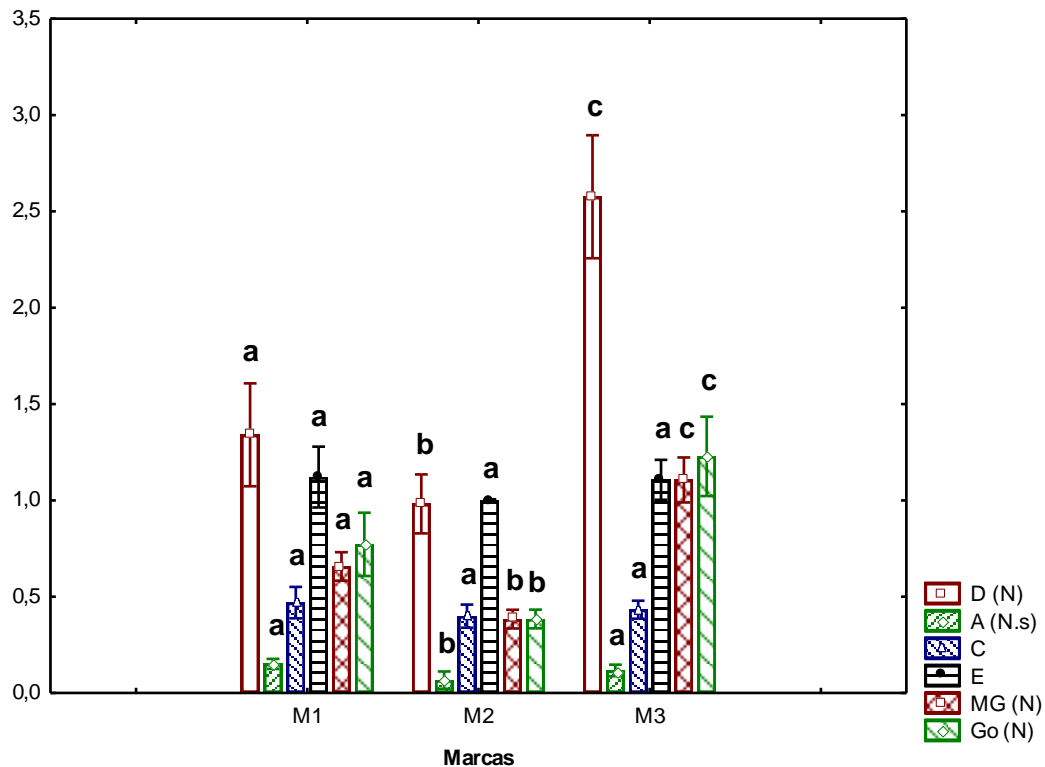


Figura 23 - Comparação de propriedades da textura entre marcas

Analisando a **figura 23**, observa-se que as marcas são todas estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) nos parâmetros de dureza, mastigabilidade e gomosidade. Quanto à coesividade e elasticidade, as marcas são todas significativamente semelhantes ($p > 0,05$). No que diz respeito à adesividade, as marcas 1 e 3 apresentam as mesmas propriedades, não se verificando o mesmo com as restantes comparações de marcas.

De acordo com Alvarenga (2000), a dureza do queijo está associada ao teor de gordura. Assim, a elevada dureza da marca 3, quando comparada com as outras marcas, está associada ao seu teor de gordura mais baixo. Uma vez que a mastigabilidade e gomosidade estão directamente relacionadas com a dureza, a M3 é a que apresenta estes parâmetros mais elevados.

5.3 Análise Sensorial

Os resultados obtidos da análise sensorial foram submetidos a uma análise estatística descritiva para seleccionar os *outliers* em cada parâmetro avaliado, uma vez que os provadores não eram treinados.

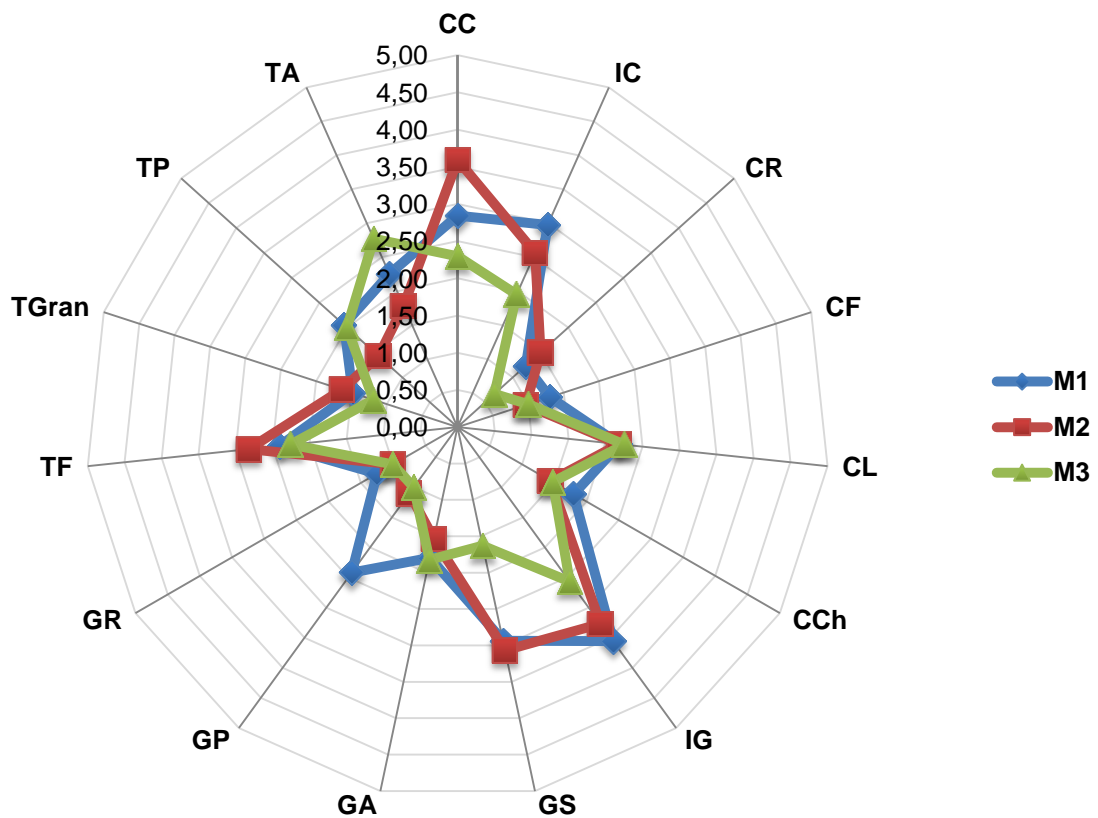


Figura 24 – Resultados da análise sensorial

Os atributos sensoriais avaliados podem ser agrupados em quatro classes: cor, cheiro, gosto e textura.

A partir do gráfico da **figura 24** (anexo V, tabela 15), é possível associar a cada atributo de cada classe a marca que apresenta a classificação mais elevada e, posteriormente, relacionar esta avaliação aos resultados obtidos instrumentalmente. Esta relação tem como principal objectivo estabelecer se os provadores não treinados apresentam alguma sensibilidade para avaliar diferentes atributos.

A análise sensorial à “cor característica” identifica a M2 com maior pontuação. Na determinação instrumental, a mesma marca é a que apresenta a cor mais amarela, sendo possível associar positivamente a cor identificada sensorialmente com a instrumental.

Em relação aos atributos de cheiro e gosto, verifica-se que a M1 apresenta a maior pontuação em mais descritores destas classes, nomeadamente, intensidade do cheiro (IC), cheiro a frutado (CF), cheiro a “chulé” (CCh), intensidade do gosto (IG), gosto picante (GP) e gosto a ranço (GR). A M2 tem uma avaliação mais elevada nos descritores cheiro a ranço (CR) e gosto salgado (GS) enquanto a M3 tem os valores mais elevados para o cheiro a lácteo (CL) e o gosto ácido (GA).

Estes atributos sensoriais são associados, em muitos estudos, à composição volátil. No entanto, para complementar ainda mais esta análise, utiliza-se a *Gas Chromatography – Olfactometry* (GC-O) com o objectivo de identificar os limiares de detecção dos diferentes compostos voláteis, importante para definir a influência de determinados compostos na percepção do *flavour* pelos provadores (Qian & Reineccius, 2002; Zellner *et al.*, 2008).

Por isso, neste estudo, seria necessário uma análise mais exaustiva da composição volátil para, desta forma, ser possível perceber a relação existente entre os descritores de gosto e cheiro e os compostos voláteis presentes no queijo. Esta análise não foi concretizada no presente estudo, por se ter utilizado um número reduzido de amostras ($n = 9$) e padrões (5). No entanto, estes padrões têm uma elevada relação com os atributos sensoriais (Preininger *et al.*, 1996; Hort *et al.*, 1997; Bugaud *et al.*, 2001; Lawlor *et al.*, 2001; Bellesia *et al.*, 2003). É importante ter em conta que os descritores sensoriais que caracterizam os compostos voláteis apresentam elevada subjectividade dependendo do painel de provadores, não sendo adequado utilizar descritores de outros estudos para caracterizar estes queijos.

Contudo, é possível avaliar a relação do atributo a “gosto ácido” (GA) com o pH, na qual se verifica a concordância entre os resultados, uma vez que os provadores identificaram a marca 3 como aquela que tinha o gosto mais ácido, o qual se confirma pelo seu menor valor de pH. O mesmo se verifica para o atributo do “gosto salgado” (GS) com o teor de cloretos (Cl), no qual a avaliação dos provadores mostrou que a marca 2 era a mais salgada. Este resultado foi de encontro ao obtido na determinação do teor de cloretos (Cl), no qual se obteve o teor de sal mais elevado para a M2.

Por outro lado, os parâmetros de textura avaliados sensorialmente podem ser associados aos determinados instrumentalmente. Os resultados obtidos relativamente à dureza (D), quando relacionados com os da textura firme (TF), foram opostos pois os provadores avaliaram a M2 como sendo a mais firme e a M3 a menos firme no entanto, instrumentalmente, verifica-se o contrário.

Quanto à coesividade (C), relacionada com a textura granulosa (TG), obtiveram-se os mesmos resultados para a marca M3, com o menor valor em ambos os casos. No caso da marca com os maiores valores destes parâmetros, a análise sensorial identificou a M2 e a instrumental a M1, não se verificando conformidade entre as análises.

Analisando a **figura 25**, verifica-se que no factor 1 as variáveis que contribuem positivamente para a variabilidade entre os queijos são o pH (pH), o teor de gordura livre (G), a intensidade do gosto (IG) e o gosto salgado (GS), entre as quais o G e o GS apresentam os maiores valores, 0,96 e 0,95 respectivamente. Quanto à textura amanteiga (TA) contribui com carga negativa.

No factor 2, as variáveis apresentam valores bastante semelhantes, em que o gosto picante (GP) e a textura pegajosa (TP) contribuem positivamente com 0,79 e 0,81, respectivamente, e o teor de cloretos (Cl) contribui negativamente com 0,82.

De uma maneira geral, só a variável química teor de gordura (G) se relaciona com os atributos sensoriais gosto salgado (GS), gosto picante (GP) e intensidade do gosto (IG), uma vez que se encontram todas no mesmo quadrante.

No que diz respeito às marcas, verifica-se que se encontram todas em quadrantes diferentes, mas com as amostras correspondentes todas próximas entre si, mostrando a homogeneidade entre amostras da mesma marca. A marca 1 está relacionada positivamente com as variáveis do factor 1 e negativamente com as do factor 2. Quanto à marca 2, está relacionada positivamente com as variáveis dos dois factores. No que diz respeito à marca 3, a relação com as variáveis do factor 1 é negativa, mas positiva com as do factor 2.

Quanto à relação entre as marcas e as variáveis, observa-se que o teor de cloretos (Cl) e o pH (pH) são as que melhor explicam a variabilidade da marca 2. A variabilidade da marca 1 é explicada pelo teor de gordura (G), gosto picante (GP), gosto salgado (GS) e intensidade do gosto (IG). Quanto à marca 3, não é possível explicar a sua variabilidade pelos parâmetros analisados.

A homogeneidade entre as amostras é visível a partir da análise de componentes principais mas, também, pela análise de *Cluster*.

O dendograma da **figura 26** representa uma árvore hierárquica dos queijos das três marcas, agregados de acordo com o *Complete-Linkage Method*, tendo como critério de agregação os parâmetros químicos e sensoriais.

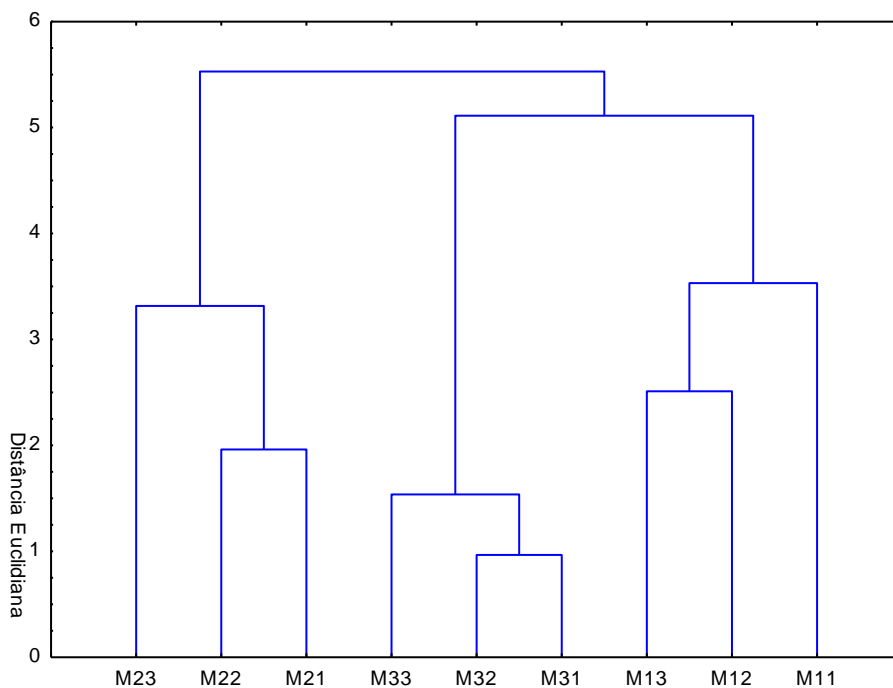


Figura 26 - Dendrograma das amostras atendendo aos parâmetros químicos e sensoriais

Analisando a distância euclidiana (anexo VI, tabela 17), verifica-se que os queijos mais distantes são o M32 e o M13, pois apresentam uma maior distância entre si (5,56), significando que são os queijos mais diferentes. No entanto, as distâncias euclidianas entre o M31 e o M13 (5,54) e o M31 e o M21 (5,53) são muito próximas da anterior, o que significa que o grau de diferença entre estes queijos é bastante semelhante ao grau existente entre os queijos mencionados anteriormente.

Contudo, é possível verificar que os queijos das três marcas são bastante homogêneos, uma vez que pertencem todos à mesma classe. Neste sentido, pode-se particularizar o caso do M33 que é bastante homogêneo quando comparado com o M32 e com o M31, uma vez que as distâncias euclidianas entre eles são bastante pequenas, 1,51 e 1,54 respectivamente.

6. Conclusões

- O presente estudo permitiu seleccionar e implementar as metodologias analíticas adequadas ao controlo analítico de alimentos, num laboratório que se pretende que venha a trabalhar em segurança alimentar. As metodologias foram testadas, analisando três marcas de queijos da Beira Interior, produto importante para a economia desta região.

- Foram seleccionadas metodologias para o controlo:

- Físico, químico;
- Sensorial

- As metodologias seleccionadas foram testadas em queijos. A análise dos resultados obtidos permite concluir:

- No que diz respeito aos parâmetros químicos, as amostras das marcas 1 e 2 são bastante heterogéneas entre si, sendo a marca 3 a que apresenta os queijos mais homogéneos. Estas diferenças são explicadas por variáveis inerentes à matéria – prima e processo tecnológico, uma vez que as metodologias utilizadas apresentam elevada reprodutibilidade, pelos desvios padrão reduzidos.

- Na comparação entre marcas, verificou-se que a M1 apresenta semelhanças com a M2 e M3, o que não acontece quando estas são comparadas entre si. A M3 é a marca que apresenta os queijos com características mais ácidas ($\text{pH} = 5,46$) e a M2 características mais salgadas ($W_{\text{Cl}} = 3,18 \%$). Quanto aos teores de humidade e gordura, as três marcas correspondem a queijos duros ($W_{\text{M}} < 51 \%$) e gordos ($W_{\text{F}} > 40 \%$).

- No que diz respeito ao perfil aromático, foram identificados 35 compostos pertencentes a diferentes famílias químicas, nomeadamente, ácidos, álcoois, cetonas, aldeídos, ésteres e hidrocarbonetos. Quanto à quantificação, as amostras apresentaram concentrações diferentes, sendo a M1 a que tem maior quantidade de ácidos gordos.

- Da análise de *Cluster* aos parâmetros químicos, verificou-se que os queijos das marcas 2 e 3 eram os mais homogéneos, uma vez que formavam classes entre si. O M12 era o mais heterogéneo, quando comparado com queijos da mesma marca ou com os de marca diferente, pois forma uma classe individual.

- Na medição objectiva da cor, obteve-se que a M3 era a marca mais clara, pois apresentava um valor de L^* superior (97,55) e a M2 era a mais amarela, uma vez que têm a maior coordenada cromática b^* (12,04).
 - Quanto às propriedades da textura, as marcas são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) nos parâmetros de dureza, mastigabilidade e gomosidade. No entanto, a marca 3 apresenta os valores mais elevados destes parâmetros, pois tem o teor de gordura mais baixo. A coesividade e a elasticidade são idênticas em todas as marcas, e a adesividade é semelhante entre as marcas 1 e 3.
 - No que diz respeito à análise sensorial, a relação entre a avaliação dos provadores e os parâmetros obtidos instrumentalmente demonstrou a necessidade de realizar este tipo de provas com um painel de provadores treinado, para que possa ser possível obter associações coerentes.
 - Assim, os resultados obtidos da análise sensorial foram submetidos a uma análise estatística descritiva para seleccionar os *outliers* em cada parâmetro avaliado. Desta forma, foi possível obter resultados concordantes no que respeita à associação do gosto ácido com o pH, do gosto salgado com o teor de cloretos, da textura pegajosa com a adesividade e da textura amanteigada com a gomosidade.
 - Por fim, a análise multivariada dos parâmetros químicos e sensoriais permitiu agrupar as amostras homogéneas em função destas características. As variáveis que constituem os principais componentes são o pH, teor de gordura, intensidade do gosto, textura amanteigada, para o factor 1, e o teor de cloretos, gosto picante e textura pegajosa, para o factor 2. As amostras da mesma marca demonstraram ser bastante homogéneas, uma vez que se encontravam todas no mesmo quadrante. Complementando estes resultados, a análise de *Cluster* demonstrou que os queijos nas três marcas são bastante homogéneos, uma vez que pertencem todos à mesma classe.
- A análise dos resultados permite concluir que as metodologias foram correctamente desenvolvidas pois apresentam boa repetibilidade.
 - Numa segunda fase, será importante efectuar ensaios interlaboratoriais para validar as metodologias.

7. Referências Bibliográficas

Almeida, J.; Pires, A. (2006). Acreditação: Vantagens e dificuldades da implementação de um Sistema da Qualidade num laboratório de ensaio e /ou calibração. *Boletim Química – SPQ*, 101: 34-39. Disponível em: http://www.spq.pt/boletim/docs/boletimSPQ_101_034_09.pdf, consultado em 30 de Junho de 2011.

Alvarenga, N. (2000). *Estudos em textura de Queijo Serpa*. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos; Universidade Técnica de Lisboa – Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

A.O.A.C. (2002). *AOAC Official Method 935.43 – Chloride (Total) in Cheese*. Official Association of Analytical Chemists, 17th Edition, Washington, DC.

Barcenas, P.; Elortondo, F.; Albisu, M. (2004). Projective mapping in sensory analysis of ewes milk cheeses: A study on consumers and trained panel performance; *Food Research International*, 37: 723 – 729.

Belitz, H.; Grosch, W.; Schieberle, P. (2009) *Food Chemistry*; 4ª Edição, Springer, Alemanha.

Bellezia, F.; Pinetti, A.; Pagonia, U.; Rinaldi, R.; Zucchi, C.; Caglioti, L.; Palyi, G. (2003). Volatile components of Grana Parmigiano-Reggiano type hard cheese; *Food Chemistry*, 83: 55 – 61.

Bertozzi, L.; Panari, G. (1993). Cheeses with Appellation d'Origine Controlée (AOC). Factors that affect quality; *International Dairy Journal*, 3: 297 – 312.

Bessa, R.; Alves, M.; Ravasco, F.; Vital, A.; Duthiot, M.; Miranda, R.; Assis, G.; Barbosa, M. (2006) *Queijo de Cabra Transmontano. Aprofundamento da caracterização do leite de cabra Serrana, ecotipo transmontano e do respectivo queijo DOP*; ANCRAS.

Bugaud, C.; Buchin, S.; Hauwuy, A.; Coulon, J. (2001). Relationships between flavour and chemical composition of Abondance cheese derived from different types of pastures; *Lait*, 81: 757 – 773.

Canada, J. (2001). *Caracterización sensorial y físico – química del Queijo Serpa*. Dissertação para optar al grado de Doctor en Tecnología de los Alimentos; Universidad de Extremadura – Facultad de Veterinaria, Cáceres.

Carbonell, M.; Nuñez, M.; Fernández-García, E. (2002). Seasonal variation of volatile compounds in ewe raw milk La Serena cheese. *Lait*, 82: 699 – 711.

Cervantes, M.; Lund, D.; Olson, N. (1983). Effects of salt concentration and freezing on Mozzarella cheese texture. *Journal of Dairy Science*, 66: 204-213.

Clark, S.; Costello, M.; Drake, M.; Bodyfelt, F. (2009). *The Sensory Evaluation of Dairy Products*; Secon edition, Springer, USA.

Cosentino, S.; Palmas, F. (1997). Hygienic conditions and microbial contamination in six ewe's-milk-processing plants in Sardinia, Italy; *Journal of Food Protection*, 60: 283 – 287.

Croissant, A.; Watson, D.; Drake, M. (2011). Application of Sensory and Instrumental Volatile Analyses to Dairy Products; *Annu. Ver. of Food Sci. Technol.*, 2: 18.1 – 18.27.

Culbertso, J.; Duncan, S.; Guerrero-Legarreta, I.; Li-Chan, E.; Ma, C.; HAnley, C.; McMeekin, T.; Nip, W.; Nollet, L.; Rahman, M.; Toldr, F.; Xiong, Y. (2006). *Handbook of Food Science Technology, and Engineering*; CRC Press, USA.

Delgado, F.; González-Crespo, J.; Cava, R.; García-Parra, J.; Ramírez, R. (2010). Characterisation by SPME–GC–MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese P.D.O. Torta del Casar during ripening; *Food Chemistry*, 118: 182 – 189.

Drake, M. (2004). ADSA Foundation Scholar Award: Defining Dairy Flavors; *J. Dairy Sci.*, 87: 777 – 784.

Drake, M. (2007). Invited Review: Sensory Analysis of Dairy Foods; *J. Dairy Sci.*, 90: 4925 – 4937.

Eck, A. (1990). *El Queso*; Ed. Omega, Barcelona.

Estatísticas Agrícolas 2008, (2009) Instituto Nacional de Estatística, Lisboa.

Fernandes, V.; Limpo, V.; Gonçalves, L.; Pedrosa, F.; Diniz, C. (2001) *Guia Técnico – Indústria de Lactícínios*, Instituto Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial, Lisboa.

Ferreira, I.; Pinho, O.; Sampaio, P. (2009). Volatile fraction of DOP “Castelo Branco” cheese: Influence of breed. *Food Chemistry*, 112: 1053 – 1059.

Foegeding, E.; Brown, J.; Drake, M.; Daubert, C. (2003). Sensory and mechanical aspects of cheese texture. *International Dairy Journal*, 13: 585 – 591.

- Fox, P.; Wallace, J. (1997). Formation of flavour compounds in cheese. *Adv. Appl. Microbiol.*, 45: 17 – 85.
- Fox, P.; McSweeney, P. (1998). *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Blackie Academic & Professional, London.
- Fox, P. (1999). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: Volume 1: General Aspect - 2nd edition*, Aspen Publishers, USA.
- Fox, P.; McSweeney, P.; Cogan, T.; Guinee, T. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*, Aspen Publishers, USA.
- Fox, P.; McSweeney, P.; Cogan, T.; Guinee, T. (2004). *Fundamentals of Cheese Science – 3rd edition*. Elsevier, Madison.
- Fragan, C.; Everard, C.; O'Donnell, C.; Downey, G.; Sheehan, E.; Delahunty, C.; O'Callaghan, D.; Howard, V. (2007). Prediction of processed cheese instrumental texture and meltability by mid-infrared spectroscopy coupled with chemometric tools. *Journal of Food Engineering*, 80: 1068 – 1077.
- Frank, D.; Owen, C.; Patterson, J. (2004). Solid phase microextraction (SPME) combined with gás-chromatography and olfactometry-mass spectrometry for characterization of cheese aroma compounds. *Food Science and Technology*, 37: 139 – 154.
- Freiras, A.; Malcata, F. (1998). Lipolysis in Picante cheese: Influence of milk type and ripening time on free fatty acid profile; *Lait*, 78: 251 – 258.
- Fuquay, J.; Fox, P.; McSweeney, P. (2011). *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Elsevier, Academic Press, United Kingdom.
- Gabinete de Planeamento e Políticas (2007). *Leite e Lacticínios – Diagnóstico Sectorial*. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Lisboa. Disponível em: http://www.gppaa.min-agricultura.pt/pbl/diagnosticos/Leite_Diagnostico_Sectorial.pdf, consultado em 30 de Junho de 2011.
- Guia RELACRE 13 Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química*, (2000) Edição 1, Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal, Lisboa.
- Gunasekaran, S.; Ak, M. (2003). *Cheese Rheology and Texture*. CRC Press, USA.

- Hammes, W. (1990). Bacterial starter cultures in food production, *Food Biotechnol.*, 4: 383.
- Hort, J.; Grys, G.; Woodman, J. (1997). The relationships between the chemical, rheological and textural properties of Cheddar cheese, *Lait*, 77: 587 – 600.
- Hugenholtz, J. (1993). Citrate metabolism in lactic acid bacteria, *FEMS Microbiol. Rev.*, 12: 165.
- Huri, Y. (1993). *Dairy Science and Technology Handbook*; Wiley-VCH, USA.
- Inspecção-Geral do Ambiente e do Ordenamento do Território (2005). *Relatório Temático de Inspeções Ambientais no Sector dos Lacticínios em 2004/2005 - Queijarias Tradicionais e Industrias*. Ministério do Ambiente e do Ordenamento do Território, Lisboa. Disponível em: http://www.igaot.pt/wp-content/uploads/2009/05/5_IGAOT_lactinios.pdf, consultado em 30 de Junho de 2011.
- Infopédia (2011). *Queijos portugueses*. Porto Editora, Porto. Disponível em [http://www.infopedia.pt/\\$queijos-portugueses](http://www.infopedia.pt/$queijos-portugueses), consultado em 7 de Julho de 2011.
- Instituto Adolfo Lutz (2008). *Métodos físico – químicos para análise de alimentos*. IV Edição, 1ª Edição Digital, São Paulo, pp. 104-105. Disponível em: http://www.crq4.org.br/sms/files/file/analisedealimentosial_2008.pdf, consultado em 14 de Março de 2011.
- ISO 1444 (1996). *Meat and meat products - Determination of free fat content*. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 1736 (2004). *Cheese and processed cheese products – Determination of fat content – Gravimetric method (reference method)*. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Izco, J.; Torre, P. (2000). Characterisation of volatile flavour compounds in Roncal cheese extracted by the 'purge and trap' method and analysed by GC - MS; *Food Chemistry*, 70: 409 – 417.
- Jesus, C. (1994). *O Uso do Texturómetro na Caracterização da Textura de Queijo*. Relatório do trabalho de fim de curso de Engenharia Agro – Industrial; Universidade Técnica de Lisboa – Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

- Lawlor, J.; Delahunty, C.; Wilkinson, M.; Sheehan, J. (2001) Relationships between the sensory characteristics, neutral volatile composition and gross composition of ten cheese varieties, *Lait*, 81: 487 – 507.
- Lawrence, R.; Creamer, L.; Gilles, J. (1987). Texture Development During Cheese Ripening, *Journal of Dairy Science*, 70: 1748 – 1760.
- Louro, P. (2009). *Documentos de apoio à unidade curricular Tecnologia Alimentar II – Módulo de Lacticínios*. Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
- Machado, M. (2003). *Evolução da textura e composição do queijo Serpa durante a sua maturação*. Dissertação para a obtenção do grau de mestre em Ciência e Engenharia de Alimentos; Universidade Técnica de Lisboa – Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.
- Malcata, A. (1996). *Microbiological, chemical, biochemical and technological contributions to the characterization and improvement of Serra Cheese*; Tese de Doutoramento; Universidade Católica Portuguesa – Escola Superior de Biotecnologia; Porto.
- Mariaca, R.; Bosset, J. (1997). Instrumental analysis of volatile (flavour) compounds in milk and dairy products; *Lait*, 77: 13 – 44.
- McSweeney, P.; Sousa, M.; (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheese during ripening. *Lait* 80: 293 – 324.
- McSweeney, P. (2007). *Cheese problems solved*; CRC Press, USA.
- Molimard, P.; Spinnler, H. (1996). Review, compounds involved in the flavour of surface mold-ripened cheeses, origins and properties; *J. Dairy Sci.*, 79: 169 – 184.
- Najera, A.; Barrón, L.; Barcina, Y. (1993). Comparación de la fracción lipídica del queso de vaca, oveja y cabra, y la influencia sobre su calidad; *Ver. Esp. Ciencia Technol. Aliment.*, 334: 345 – 363.
- Nielson, S. (2008). *Análisis de los Alimentos*. 3ª Edição, Editorial ACRIBIA, S.A., Zaragoza, pp. 230.
- NP 1598 (1983). *Queijo. Definição, classificação, acondicionamento e marcação*. 2ª Edição, Instituto Português da Qualidade, Caparica.

NP 4146 (1991). *Leite e produtos lácteos – Métodos de colheita de amostras*. Instituto Português da Qualidade, Caparica.

NP 3544 (1987). *Queijos e Queijos Fundidos – Determinação do resíduo seco e do resíduo seco isento de matéria gorda*. Instituto Português da Qualidade, Caparica.

Nollet, L.; Toldrá, F. (2010). *Handbook of Dairy Foods Analysis*. CRC Press, USA.

Nunes, A. (2009). *O Sector do Leite e Produtos Lácteos na Perspectiva da Segurança Alimentar*. Dissertação apresentada para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar; Universidade Nova de Lisboa - Faculdade de Ciências e Tecnologia, Lisboa.

Park, Y. (2001). Proteolysis and Lipolysis of Goat Milk Cheese; *J. Dairy Sci.* 84 (E. Suppl.): E84 - E92.

Pereira, C.; Gomes, E.; Gomes, A.; Malcata, F. (2008). Proteolysis in model Portuguese cheeses: Effects of rennet and starter culture; *Food Chemistry*, 108: 862 - 868.

Pérès, C.; Viallon, C.; Berdagué, J. (2001) Solid-Phase Microextraction-Mass Spectrometry: A New Approach to the Rapid Characterization of Cheeses, *Anal. Chem.*, 73: 1030-1036.

Pinheiro, C. (2001). *Contributo para a caracterização do queijo de ovelha produzido na região de Évora: aspectos químicos, bioquímicos do leite obtido em diferentes sistemas de produção e físico – químicos, bioquímicos e tecnológicos e organolépticos*. Tese de Doutoramento. Universidade de Évora, Évora.

Pinho, O.; Ferreira, I.; Casl, S.; Fernandes, J.; Oliveira, M.; Ferreira, M. (2001). Method Optimization for Analysis of the Volatile Fraction of Ewe Cheese by Solid-Phase Microextraction, *Chromatographia Supplement*, 53: 390 – 393.

Pinho, O.; Pérès, C.; Ferreira, I. (2003) Solid-phase microextraction of volatile compounds in “Terrincho” ewe cheese. Comparison of different fibers, *Journal of Chromatography A*, 1011: 1-9.

Preininger, M.; Warmke, R.; Grosch, W. (1996). Identification of the character impact flavour compounds of Swiss cheese by sensory studies of models; *Z Lebensm Unters Forsch*; 202: 30 – 34.

Qian, M.; Reineccius, G. (2002). Identification of Aroma Compounds in Parmigiano-Reggiano Cheese by Gas Chromatography / Olfactometry; *J.Dairy Sci.*, 85:1362 – 1369.

Reis, P.; Domingos, T.; Freitas, A.; Macedo, A.; Trigueiros, J.; Malcata, F. (2004) *PROdução, por Tecnologias Optimizadas, de LACTicínios Tradicionais certificados – PROTOLACTIS*, Universidade Católica Portuguesa - Escola Superior de Biotecnologia, Porto.

Ribeiro, M. (1998). *Textura de Queijo – Um estudo de variáveis de processamento*. Dissertação para a obtenção do grau de mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos; Universidade Técnica de Lisboa – Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

Singh, T.; Drake, M.; Cadwallader, K. (2003). Flavor of Cheddar cheese: A chemical and sensory perspective; *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2: 165.

Sousa, I; Costa, S. (2008). *Documentos de apoio à unidade curricular Reologia e Estrutura dos Alimentos*. Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

Statsoft (2004). *STATISTICA, release 7.0*. Tulsa, OK: Statsoft Inc.

Steele, J.; Johnson, M.; (1997). Fermented dairy products. In: Doyle M, Beauchat L, Montville T, editores. Food microbiology: fundamentals and frontiers. *Washington, D.C.: ASM Press*; 31: 581 – 592.

Tavaria, F.; Dahl, S.; Carballo, F.; Malcata, F. (2002). Amino acid catabolism and generation of volatiles by lactic acid bacteria. *Journal Dairy Science*, 85: 2462 – 2470.

Tavaria, F.; Dahl, S.; Carballo, F.; Malcata, F. (2004). Volatile free fatty acids as ripening indicators for Serra da Estrela Cheese. *Journal Dairy Science*, 87: 4064 – 4072.

Thierry, A.; Maillard, M. (2002). Production of cheese flavour compounds derived from amino acid catabolism by *Propionibacterium freudenreichii*, *Lait*, 82: 17.

Ventura, C. (2003) *Caracterização Físico-Química e Microbiológica do Queijo do Rabaçal*. Dissertação para a obtenção do grau de mestre em Ciência e Engenharia de Alimentos; Universidade Técnica de Lisboa – Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

Vítová E.; Loupancová, B.; Zemanová, J.; Stoudkova, H.; Brezina, P.; Babák, L. (2006). Solid – phase microextraction for analysis of mould cheese aroma, *Czech J. Food Sci.*, 24: 268 – 274.

Wallace, J.; Fox, P. (1997). Effect of adding free amino acids to Cheddar cheese curd on proteolysis, flavour and texture development, *Int. Dairy J.*, 7: 157.

Walstra, P.; Wouters, J.; Geurts, T. (2006). *Dairy Science and Technology*. CRC, Second Edition, USA.

Westad, F.; Hersleth, M.; Lea, P. (2004). Strategies for consumer segmentation with applications on preference data; *Food Quality and Preference*, 15: 681 – 687.

Yvon, M.; Rijnen, L. (2001). Cheese flavour formation by amino acid catabolism. *Int. Dairy J.*, 11: 185.

Zellner, B.; Dugo, P.; Dugo, G.; Mondello, L. (2008). Gas chromatography–olfactometry in food flavour analysis; *Journal of Chromatography A*, 1186: 123 – 143.

8. Cibergrafia

http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000214&selTab=tab2, consultado em 10 de Julho de 2011.

http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000920&selTab=tab2, consultado em 10 de Julho de 2011.

9. Anexos

ANEXO I – Ficha de prova sensorial para avaliação de queijo

Folha de Análise Sensorial de Queijo

Nome: _____ Idade: _____ Data: _____ Código: _____

Aparência

Cor característica

0	1	2	3	4	5
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nada intensa					Muito intensa

Cheiro

Intenso

Ranço

Frutado

Lácteo

"Chulé"

0	1	2	3	4	5
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nada					Excessivo

Gosto

Intenso

Salgado

Ácido

Picante

Rançoso

0	1	2	3	4	5
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nada					Excessivo

Textura

Firme

Granulosa

Pegajosa

Amanteigada

0	1	2	3	4	5
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nada					Muito

Apreciação Global

0	1	2	3	4	5
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Não gosto					Gosto Muito

Intenção de compra

0	1	2	3	4	5
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Não compra					Compra de certeza

Muito obrigada pela colaboração!

ANEXO II – Comparação de resultados dos parâmetros químicos entre queijos da mesma marca e entre marcas diferentes

II.I - Comparação de resultados dos parâmetros químicos entre queijos da mesma marca

Tabela 7 - Comparação de médias dos parâmetros químicos entre queijos da marca 1

Parâmetro	M11	M12	<i>p</i>	M11	M13	<i>p</i>	M12	M13	<i>p</i>
pH	5,58 ± 0,04	6,28 ± 0,09	<u>0,00</u>	5,58 ± 0,04	5,91 ± 0,05	<u>0,00</u>	6,28 ± 0,09	5,91 ± 0,05	<u>0,00</u>
Cl (%)	1,88 ± 0,02	1,99 ± 0,04	<u>0,00</u>	1,88 ± 0,02	1,96 ± 0,02	<u>0,00</u>	1,99 ± 0,04	1,96 ± 0,02	0,35
H (%)	38,2 ± 0,1	42,6 ± 0,4	<u>0,00</u>	38,2 ± 0,1	40,4 ± 0,4	<u>0,00</u>	42,6 ± 0,4	40,4 ± 0,4	<u>0,00</u>
G (%)	48,8 ± 0,4	54,3 ± 1,0	<u>0,00</u>	48,8 ± 0,4	50,5 ± 1,1	<u>0,02</u>	54,3 ± 1,0	50,5 ± 1,1	<u>0,00</u>

Os valores sublinhados são as amostras significativamente diferentes ($p < 0,05$)

Tabela 8 - Comparação de médias dos parâmetros químicos entre queijos da marca 2

Parâmetro	M21	M22	<i>p</i>	M21	M23	<i>p</i>	M22	M23	<i>p</i>
pH	5,82 ± 0,06	6,04 ± 0,03	<u>0,00</u>	5,82 ± 0,06	5,85 ± 0,03	0,54	6,04 ± 0,03	5,85 ± 0,03	<u>0,00</u>
Cl (%)	3,04 ± 0,11	2,90 ± 0,05	<u>0,02</u>	3,04 ± 0,11	3,60 ± 0,06	<u>0,00</u>	2,90 ± 0,05	3,60 ± 0,06	<u>0,00</u>
H (%)	38,1 ± 0,5	37,9 ± 0,2	0,92	38,1 ± 0,5	34,6 ± 1,4	<u>0,00</u>	37,9 ± 0,2	34,6 ± 1,4	<u>0,00</u>
G (%)	55,2 ± 0,8	53,6 ± 2,5	0,24	55,2 ± 0,8	47,4 ± 0,8	<u>0,00</u>	53,6 ± 2,5	47,4 ± 0,8	<u>0,00</u>

Os valores sublinhados são as amostras significativamente diferentes ($p < 0,05$)

Tabela 9 - Comparação de médias dos parâmetros químicos entre queijos da marca 3

Parâmetro	M31	M32	<i>p</i>	M31	M33	<i>p</i>	M32	M33	<i>p</i>
pH	5,33 ± 0,02	5,51 ± 0,05	<u>0,00</u>	5,33 ± 0,02	5,54 ± 0,03	<u>0,00</u>	5,51 ± 0,05	5,54 ± 0,03	0,26
Cl (%)	2,35 ± 0,03	2,40 ± 0,03	0,30	2,35 ± 0,03	2,42 ± 0,08	0,11	2,40 ± 0,03	2,42 ± 0,08	0,80
H (%)	36,7 ± 1,1	46,3 ± 0,5	<u>0,00</u>	36,7 ± 1,1	42,7 ± 0,4	<u>0,00</u>	46,3 ± 0,5	42,7 ± 0,4	<u>0,00</u>
G (%)	41,4 ± 2,1	39,1 ± 2,7	0,22	41,4 ± 2,1	37,2 ± 2,1	<u>0,02</u>	39,1 ± 2,7	37,2 ± 2,1	0,37

Os valores sublinhados são as amostras significativamente diferentes ($p < 0,05$)

II.II - Comparação dos resultados dos parâmetros químicos entre marcas diferentes

Tabela 10 - Comparação de médias dos parâmetros químicos entre queijos de marcas diferentes

Parâmetro	M1	M2	<i>p</i>	M1	M3	<i>p</i>	M2	M3	<i>p</i>
pH	5,92 ± 0,30	5,90 ± 0,11	0,96	5,92 ± 0,30	5,46 ± 0,10	<u>0,00</u>	5,90 ± 0,11	5,46 ± 0,10	<u>0,00</u>
Cl (%)	1,94 ± 0,05	3,18 ± 0,32	<u>0,00</u>	1,94 ± 0,05	2,39 ± 0,05	<u>0,00</u>	3,18 ± 0,32	2,39 ± 0,05	<u>0,00</u>
H (%)	40,4 ± 1,9	36,9 ± 1,8	<u>0,00</u>	40,4 ± 1,9	41,9 ± 4,1	0,27	36,9 ± 1,8	41,9 ± 4,1	<u>0,00</u>
G (%)	51,2 ± 2,5	52,1 ± 3,8	0,70	51,2 ± 2,5	39,2 ± 2,8	<u>0,00</u>	52,1 ± 3,8	39,2 ± 2,8	<u>0,00</u>

Os valores sublinhados são as amostras significativamente diferentes ($p < 0,05$)

ANEXO III – Análise de *Cluster* aos parâmetros químicos

Tabela 11 - Análise factorial dos principais componentes dos parâmetros químicos

Variável	Factor 1	Factor 2
pH	<u>0,78</u>	0,54
Cl	0,47	<u>-0,72</u>
H	-0,59	0,66
G	<u>0,90</u>	0,34
Expl. Var	1,99	1,36
Prop. Totl	0,50	0,34

Os valores sublinhados correspondem aos factores seleccionados ($\geq |0,7|$)

Tabela 12 - Distâncias euclidianas entre queijos com base nos parâmetros químicos

	M11	M12	M13	M21	M22	M23	M31	M32	M33
M11	0,00	2,49	1,14	2,37	2,45	3,14	1,60	1,71	1,95
M12	2,49	0,00	1,36	2,39	1,79	3,32	3,76	3,50	3,62
M13	1,14	1,36	0,00	2,01	1,75	2,90	2,45	2,29	2,45
M21	2,37	2,39	2,01	0,00	0,79	1,52	2,88	2,83	3,02
M22	2,45	1,79	1,75	0,79	0,00	1,66	3,13	2,92	3,06
M23	3,14	3,32	2,90	1,52	1,66	0,00	2,93	2,69	2,76
M31	1,60	3,76	2,45	2,88	3,13	2,93	0,00	0,69	0,94
M32	1,71	3,50	2,29	2,83	2,92	2,69	0,69	0,00	0,30
M33	1,95	3,62	2,45	3,02	3,06	2,76	0,94	0,30	0,00

ANEXO IV – Comparação de resultados dos parâmetros físicos entre marcas diferentes

IV.1 - COR

Tabela 13 - Comparação de médias dos parâmetros da cor entre queijos de marcas diferentes

Parâmetro	M1	M2	<i>p</i>	M1	M3	<i>p</i>	M2	M3	<i>p</i>
a*	- 0,83 ± 0,38	3,31 ± 0,39	<u>0,00</u>	- 0,83 ± 0,38	- 0,64 ± 0,28	0,53	3,31 ± 0,39	- 0,64 ± 0,28	<u>0,00</u>
b*	4,25 ± 1,41	12,04 ± 1,07	<u>0,00</u>	4,25 ± 1,41	3,25 ± 0,67	0,15	12,04 ± 1,07	3,25 ± 0,67	<u>0,00</u>
L*	95,19 ± 2,06	83,90 ± 0,44	<u>0,00</u>	95,19 ± 2,06	97,55 ± 0,49	<u>0,00</u>	83,90 ± 0,44	97,55 ± 0,49	<u>0,00</u>
c*	4,33 ± 1,45	12,48 ± 1,13	<u>0,00</u>	4,33 ± 1,45	3,31 ± 0,71	0,16	12,48 ± 1,13	3,31 ± 0,71	<u>0,00</u>
h°	100,67 ± 2,59	105,33 ± 0,82	<u>0,00</u>	100,67 ± 2,59	100,78 ± 2,82	0,99	105,33 ± 0,82	100,78 ± 2,82	<u>0,00</u>

Os valores sublinhados são as amostras significativamente diferentes ($p < 0,05$)

IV.II - TEXTURA

Tabela 14 - Comparação de médias dos parâmetros de textura entre queijos de marcas diferentes

Parâmetro	M1	M2	<i>p</i>	M1	M3	<i>p</i>	M2	M3	<i>p</i>
(D) Dureza (N)	1,34 ± 0,28	0,98 ± 0,16	<u>0,04</u>	1,34 ± 0,28	2,58 ± 0,34	<u>0,00</u>	0,98 ± 0,16	2,58 ± 0,34	<u>0,00</u>
(A) Adesividade (N.s)	0,15 ± 0,03	0,07 ± 0,05	<u>0,00</u>	0,15 ± 0,03	0,12 ± 0,03	0,12	0,07 ± 0,05	0,12 ± 0,03	<u>0,01</u>
(C) Coesividade (TU)	0,47 ± 0,09	0,40 ± 0,06	0,09	0,47 ± 0,09	0,43 ± 0,05	0,51	0,40 ± 0,06	0,43 ± 0,05	0,51
(E) Elasticidade (TU)	1,12 ± 0,17	1,00 ± 0,00	0,11	1,12 ± 0,17	1,11 ± 0,11	0,96	1,00 ± 0,00	1,11 ± 0,11	0,18
(MG) Mastigabilidade (N)	0,66 ± 0,08	0,38 ± 0,05	<u>0,00</u>	0,66 ± 0,08	1,11 ± 0,12	<u>0,00</u>	0,38 ± 0,05	1,11 ± 0,12	<u>0,00</u>
(Go) Gomosidade (N)	0,77 ± 0,17	0,38 ± 0,05	<u>0,00</u>	0,77 ± 0,17	1,23 ± 0,22	<u>0,00</u>	0,38 ± 0,05	1,23 ± 0,22	<u>0,00</u>

Os valores sublinhados são as amostras significativamente diferentes ($p < 0,05$)

ANEXO V – Resultados da análise sensorial das diferentes marcas

Tabela 15 - Médias dos atributos sensoriais das diferentes marcas de queijo

Parâmetro	M1	M2	M3
Cor característica (CC)	2,84 ± 0,64	3,59 ± 0,50	2,30 ± 0,73
Intensidade do cheiro (IC)	2,98 ± 0,82	2,56 ± 0,50	1,95 ± 0,73
Cheiro a ranço (CR)	1,24 ± 0,44	1,50 ± 0,88	0,67 ± 0,49
Cheiro a frutado (CF)	1,30 ± 0,47	0,97 ± 0,76	1,00 ± 0,00
Cheiro a lácteo (CL)	2,19 ± 0,66	2,18 ± 0,69	2,26 ± 0,62
Cheiro a "chulé" (CCh)	1,80 ± 0,89	1,44 ± 0,51	1,48 ± 0,51
Intensidade do gosto (IG)	3,56 ± 0,85	3,27 ± 0,71	2,57 ± 0,50
Gosto salgado (GS)	2,93 ± 0,95	3,07 ± 0,73	1,63 ± 0,66
Gosto ácido (GA)	1,79 ± 0,70	1,54 ± 0,50	1,83 ± 0,78
Gosto picante (GP)	2,42 ± 1,07	1,10 ± 0,31	1,00 ± 0,00
Gosto rançoso (GR)	1,25 ± 0,45	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,63
Textura firme (TF)	2,40 ± 0,77	2,82 ± 0,96	2,26 ± 0,69
Textura granulosa (TGran)	1,48 ± 0,51	1,63 ± 0,81	1,19 ± 0,40
Textura pegajosa (TP)	2,05 ± 0,80	1,43 ± 0,61	2,00 ± 0,89
Textura amanteigada (TA)	2,26 ± 0,79	1,79 ± 0,81	2,77 ± 0,68

ANEXO VI – Análise multivariada aos parâmetros químicos e sensoriais
Tabela 16 - Análise factorial aos principais componentes dos parâmetros químicos e sensoriais

Variável	Factor 1	Factor 2
pH	<u>0,81</u>	0,14
Cl	0,24	<u>-0,82</u>
H	-0,38	0,46
G	<u>0,96</u>	0,11
CC	0,68	-0,22
IC	0,63	0,49
CR	0,64	0,20
CF	-0,22	0,05
CL	0,00	-0,04
CCh	0,14	0,67
IG	<u>0,75</u>	0,47
GS	<u>0,95</u>	0,16
GA	-0,38	0,45
GP	0,26	<u>0,79</u>
GR	0,22	0,34
TF	0,61	-0,08
TGran	0,55	-0,14
TP	-0,44	<u>0,81</u>
TA	<u>-0,77</u>	0,43
Expl. Var	6,29	3,74
Prop. Totl	0,33	0,20

Os valores sublinhados correspondem aos factores seleccionados ($\geq |0,7|$)

Tabela 17 - Distâncias euclidianas entre queijos com base nos parâmetros químicos e sensoriais

	M11	M12	M13	M21	M22	M23	M31	M32	M33
M11	0,00	3,53	2,99	4,92	4,68	5,51	4,22	4,52	4,51
M12	3,53	0,00	2,51	4,02	3,61	5,03	5,11	4,96	4,99
M13	2,99	2,51	0,00	3,11	2,59	3,46	3,54	3,56	3,29
M21	4,92	4,02	3,11	0,00	1,96	3,32	5,37	5,53	4,93
M22	4,68	3,61	2,59	1,96	0,00	2,77	4,75	4,79	4,54
M23	5,51	5,03	3,46	3,32	2,77	0,00	3,89	3,78	3,39
M31	4,22	5,11	3,54	5,37	4,75	3,89	0,00	0,97	1,54
M32	4,52	4,96	3,56	5,53	4,79	3,78	0,97	0,00	1,51
M33	4,51	4,99	3,29	4,93	4,54	3,39	1,54	1,51	0,00