

Caracterização Físico-Química de Queijos DOP e não-DOP da região da Beira Interior e laboração e análise de queijo com pólen de abelha incorporado

Tomás Ricardo Serrano Santos

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Biotecnologia
(2º ciclo de estudos)

Orientador: Prof.^a Doutora Ofélia Maria Serralha dos Anjos
Co-orientador: Prof. Doutor António José Geraudes de Mendonça
Co-orientador: Doutora Luísa Alexandra Serrano Paulo

novembro de 2021

Dedicatória

Dedico esta dissertação aos meus pais e à minha irmã.

Agradecimentos

Em primeiro lugar quero agradecer à minha família que tanto amo. Agradeço aos meus pais que sempre me motivaram, apoiaram, ouviram, e cujo esforço me permitiu realizar este trabalho em primeira instância. Agradeço também à minha irmã por me ouvir, aconselhar e cuja companhia tornou este ano muito mais leve. Um obrigado também a todos os restantes membros da minha família mais próxima que de um modo ou de outro permitiram que tudo corresse sempre pelo melhor, sobretudo aos meus avós que me ligavam diariamente para saber como tinha corrido o meu dia.

Quero agradecer à minha orientadora, a Professora Ofélia Anjos por me ter confiado este projeto, por ter acreditado em mim e me ter apoiado nas maiores dificuldades que este apresentou. Agradeço também ao meu co-orientador, o Professor António Mendonça pela contribuição para este trabalho e pela disponibilidade na realização das correções desta dissertação.

Agradeço imenso a toda a equipa do CATAA, especialmente à minha co-orientadora Doutora Luísa Paulo e à Engenheira Mafalda Resende pelo apoio e incansável esforço para me transmitirem os melhores ensinamentos, mas também à Engenheira Helena Beato, ao Engenheiro Mário Cristóvão e à Maria pela ajuda durante os ensaios.

Quero agradecer à Soraia Pedro e à Celina Barroca pelo apoio, paciência e ajuda durante as análises efetuadas na ESA-IPCB. Agradeço também à engenheira Laura Santiago pelos conselhos aquando do fabrico dos queijos com pólen de abelha.

Agradeço a todos os meus amigos, especialmente ao meu melhor amigo João Vaz por ouvir os meus desabafos e me proporcionar sábios conselhos que me motivaram a prosseguir e concluir esta jornada.

E, como esta dissertação marca também o fim do meu percurso académico na Universidade da Beira Interior, agradeço a todos os docentes desta excelente instituição por me ensinarem tão bem, e aos meus amigos Ubianos e à cidade da Covilhã por me terem proporcionado os melhores anos da minha vida.

Um sincero obrigado a todos!

Ainda num registo de agradecimento, menciono a referência do projeto que financiou este trabalho praticamente na sua totalidade:

Projeto - Programa de Valorização da Fileira do Queijo da Região Centro; código do projeto - CENTRO 04-3928-FEDER-000014.



Resumo

Este trabalho consistiu na caracterização físico-química de queijos da região da Beira Interior com certificação de Denominação de Origem Protegida (DOP) (n=33) sendo estes os queijos Serra da Estrela e Amarelo da Beira Baixa e queijos não-DOP (n=30), muito semelhantes aos anteriores no que se refere a matérias primas usadas, local e processo de fabrico. Foram caracterizados os parâmetros: cor, gordura, perfil dos ácidos gordos, sólidos totais, proteína, humidade, extrato seco, cinzas, pH, sódio e teor de sal. Além de análises nutricionais pelos métodos convencionais recorreu-se ao equipamento de *Foodscan* (via NIR). Nas análises nutricionais verificou-se que tanto os queijos DOP como os não-DOP cumpriam com os critérios de qualidade estabelecidos no caderno de especificações, no entanto, a percentagem de HIMG dos queijos Serra da Estrela DOP ficou muito próxima da percentagem mínima que está estabelecida. Para além disso verificou-se que o facto de os queijos terem ou não certificação DOP tinha mais influência nos parâmetros físico-químicos do que o facto de serem do tipo Amarelo da Beira Baixa ou Serra da Estrela.

Procedeu-se também à laboração de 90 queijos Amarelo da Beira Baixa não-DOP em formato merendeira com incorporação de pólen de abelha. Trinta queijos foram submetidos a análises físico-químicas sendo estudados os mesmos parâmetros mencionados no parágrafo anterior através das mesmas técnicas laboratoriais. A caracterização físico-química coincidiu com as análises nutricionais da parte anterior sendo que nesta parte foi acrescentada a análise à acidez e à consistência/textura. As análises físico-químicas aos queijos produzidos demonstraram que o tempo de cura foi o fator que mais influenciou o comportamento dos parâmetros físico-químicos, mais do que o tipo e concentração de pólen adicionado.

Palavras-chave

Queijo; denominação de origem protegida; análises físico-químicas; análises nutricionais; espectroscopia; pólen de abelha.

Abstract

This work consisted of the physicochemical characterization of cheeses from the region of Beira Interior with Protected Designation of Origin (DOP) certification (n=33) and these are Serra da Estrela and Amarelo da Beira Baixa cheeses and non-DOP cheeses (n= 30), very similar to the above with regard to used raw materials, location and manufacturing process. Parameters were characterized: color, fat, fatty acid profile, total solids, protein, moisture content, dry extract, ash, pH, sodium and salt content. In addition to nutritional analysis, Foodscan (NIR) equipment was used. In the nutritional analysis it was verified that both DOP and non-DOP cheeses complied with the quality criteria established in the specification, however, the percentage of HIMG of Serra da Estrela DOP cheeses was really close to the minimum percentage that is established. Furthermore, it was found that whether the cheeses had DOP certification or not had more influence on the physical-chemical parameters than whether they were of the Amarelo da Beira Baixa or Serra da Estrela type.

Ninety non-DOP Amarelo da Beira Baixa cheeses were also processed using small molds with bee pollen. Thirty cheeses were subjected to physicochemical analysis and the same parameters mentioned in the previous paragraph were studied using the same laboratory techniques. The physicochemical characterization coincided with the nutritional analyzes of the previous part, and in this part the analysis of acidity and consistency/texture was added. The physicochemical analysis of the produced cheeses showed that ripening time was the factor that most influenced the behaviour of the physicochemical parameters, more than the type and concentration of added pollen.

Keywords

Cheese; protected designation of origin; physicochemical analysis; nutritional analysis; spectroscopy; bee pollen; microbiological analysis.

Índice

| | |
|-------------------------|------|
| Dedicatória..... | iii |
| Agradecimentos | v |
| Resumo..... | vii |
| Abstract | ix |
| Lista de Figuras..... | xiv |
| Lista de Tabelas | xvii |
| Lista de Acrónimos..... | xx |

Capítulo I

| | |
|---|-----------|
| 1. Introdução | 1 |
| 1.1 Matérias primas para a produção de queijo..... | 3 |
| 1.1.1. Leite de cabra | 3 |
| 1.1.2. Leite de ovelha..... | 4 |
| 1.2. Queijo: Aspetos Nutricionais | 4 |
| 1.2.1. Humidade | 4 |
| 1.2.2. Extrato seco | 4 |
| 1.2.3. Proteína..... | 5 |
| 1.2.4. Gordura..... | 5 |
| 1.2.5. Ácidos Gordos..... | 5 |
| 1.2.6. Sódio e teor de sal | 6 |
| 1.2.7. Hidratos de carbono..... | 6 |
| 1.3. Queijo: efeitos benéficos na saúde | 7 |
| 1.4. Queijo e microrganismos | 7 |
| Objetivos | 11 |
| Descrição da empresa | 12 |

Capítulo II

| | |
|---|-----------|
| 2. Caracterização Físico-Química de Queijos DOP e não-DOP da região da Beira Interior..... | 13 |
| 2.1. Revisão Bibliográfica | 13 |
| 2.1.1. Produtos com certificação de Denominação de Origem Protegida (DOP) | 13 |
| 2.1.2. Queijos com Denominação de Origem Protegida em Portugal..... | 14 |
| 2.1.3. Queijos com Denominação de Origem Protegida na região da Beira Interior ... | 15 |
| 2.1.3.1. Queijo Amarelo da Beira Baixa..... | 15 |
| 2.1.3.2. Queijo Serra da Estrela..... | 17 |
| 2.1.4. Técnicas de análise | 19 |
| 2.1.4.1. NIR - <i>Near Infra-Red</i> | 19 |
| 2.2. Materiais e métodos | 20 |
| 2.2.1. Análises Físico-Químicas | 20 |
| 2.2.1.1. Determinação do teor de humidade..... | 20 |
| 2.2.1.2. Determinação do teor de extrato seco | 20 |
| 2.2.1.3 Determinação do teor de cinzas | 21 |
| 2.2.1.4. Determinação do teor de proteína | 21 |
| 2.2.1.5 Determinação do teor de gordura | 22 |
| 2.2.1.6 Determinação do perfil de Ácidos Gordos..... | 23 |
| 2.2.1.7. Determinação do teor de sódio..... | 23 |
| 2.2.1.8. Determinação do pH | 23 |
| 2.2.1.9. Determinação do teor de hidratos de carbono (HC)..... | 23 |

| | |
|--|-----------|
| 2.2.1.10. Determinação do teor de do teor de humidade, sólidos totais, gordura e proteína por FoodScan | 24 |
| 2.2.1.11. Cor | 24 |
| 2.2.2. Análise Estatística | 24 |
| 2.3. Resultados e discussão..... | 25 |
| 2.3.1 Análises Físico-Químicas..... | 25 |
| 2.3.1.1 Parâmetros nutricionais | 25 |
| 2.3.1.2. Correlação entre os métodos convencionais realizados e as análises por Foodscan.... | 28 |
| 2.3.1.3. Perfil dos ácidos gordos..... | 29 |
| 2.3.1.4. Cor..... | 31 |
| 2.4. Conclusões e perspectivas futuras..... | 33 |

Capítulo III

3. Laboração e análise de queijos Amarelo da Beira Baixa não-DOP com pólen de abelha incorporado

| | |
|--|-----------|
| 3.1. Revisão bibliográfica..... | 34 |
| 3.1.1. Inovação alimentar..... | 34 |
| 3.1.2. Fabrico de queijo..... | 35 |
| 3.1.3. Queijo com pólen de abelha incorporado..... | 36 |
| 3.1.4. Pólen | 36 |
| 3.1.4.1. Composição Química | 36 |
| 3.1.4.2. Efeitos benéficos..... | 37 |
| 3.1.4.3. Atividade antimicrobiana..... | 38 |
| 3.2. Materiais e métodos..... | 39 |
| 3.2.1. Análise polínica | 39 |
| 3.2.2. Fabrico dos queijos..... | 40 |
| 3.2.3. Análises físico-químicas..... | 42 |
| 3.2.3.1. Parâmetros Químicos | 42 |
| 3.2.3.2. Parâmetros Físicos | 42 |
| 3.2.5. Análise estatística | 43 |
| 3.3. Resultados e discussão..... | 44 |
| 3.3.1. Análise polínica | 44 |
| 3.3.2. Análises Físico-Químicas | 45 |
| 3.3.2.1 Parâmetros químicos..... | 45 |
| 3.3.2.2. Perfil de Ácidos gordos | 48 |
| 3.3.2.3. Parâmetros físicos..... | 52 |
| 3.4. Conclusões e perspectivas futuras..... | 57 |

Capítulo IV

4. Bibliografia

| | |
|--|-----------|
| Anexos | 65 |
| Anexo I – Poster | 66 |
| <i>Characterization of physicochemical parameters of “Amarelo da Beira Baixa”</i> | 66 |

Lista de Figuras

Figura 1 – Logotipo da marca de Denominação de Origem Protegida (DOP)

Figura 2 – Área geográfica da Região da Beira Baixa, destacada a cor de laranja.

Figura 3 – Área geográfica da Serra da Estrela.

Figura 4– Projeção dos três componentes principais (PC1 vs PC2 e PC1 vs PC3) dos parâmetros analisados para os queijos Amarelo e Serra da Estrela, DOP e não-DOP.

Figura 5 – Projeção dos três componentes principais (PC1 vs PC2 e PC1 vs PC3) dos ácidos gordos dos queijos Amarelo e Serra da Estrela, DOP e não-DOP.

Figura 6 – Projeção dos dois componentes principais (PC1 vs PC2) das coordenadas de cor para os queijos Amarelo e Serra da Estrela, DOP e não-DOP.

Figura 7 – Amostras de pólen utilizadas nos ensaios.

Figura 8 – Fluxograma do processo de fabrico dos queijos

Figura 9 – Projeção dos três componentes principais (PC1 vs PC2 e PC1 vs PC3) dos parâmetros dos queijos Castelo Branco fabricados.

Figura 10– Projeção dos três componentes principais (PC1 vs PC2 e PC1 vs PC3) dos ácidos gordos dos queijos Castelo Branco fabricados.

Figura 11 – Queijos após laboração (1 dia de cura): queijo controlo (C), queijo com pólen A em 2g/L (A2), queijo com pólen A em 4 g/L (A4), queijo com pólen B em 2g/L (B2) e queijo com pólen B em 4 g/L (B4).

Figura 12 – Queijos após 30 dias de cura: queijo controlo (C), queijo com pólen A em 2g/L (A2), queijo com pólen A em 4 g/L (A4), queijo com pólen B em 2g/L (B2) e queijo com pólen B em 4 g/L (B4).

Figura 13- Queijos após 45 dias de cura: queijo controlo (C), queijo com pólen A em 2g/L (A2), queijo com pólen A em 4 g/L (A4), queijo com pólen B em 2g/L (B2) e queijo com pólen B em 4 g/L (B4).

Figura 14 – Projeção dos três componentes principais (PC1 vs PC2 e PC1 vs PC3) das coordenadas de cor dos queijos Castelo Branco fabricados.

Figura 15 – Projeção dos três componentes principais (PC1 vs PC2 e PC1 vs PC3) da textura dos queijos Castelo Branco fabricados.

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Classificação de queijos com base na matéria gorda no extrato seco, cura, composição e consistência

Tabela 2 – Matérias primas usadas no fabrico de queijos

Tabela 3 - Resultados das análises nutricionais relativas aos queijos Amarelo da Beira Baixa e Serra da Estrela (DOP e não-DOP) e respetiva análise de variância.

Tabela 4 – Comparação entre as percentagens de MGES e HIMG estabelecidas no Caderno de Especificações dos queijos da Beira Baixa e as percentagens médias obtidas na análise dos queijos Amarelo DOP e não-DOP.

Tabela 5 – Comparação entre as percentagens de MGES e HIMG estabelecidas no Caderno de especificações do queijo Serra da Estrela e as percentagens médias obtidas na análise dos queijos Serra da Estrela DOP e não-DOP.

Tabela 6 - Resultados nutricionais (Humidade, Proteína, Gordura e Sólidos Solúveis Totais), obtidos por *Foodscan*, dos queijos Amarelo da Beira Baixa e dos queijos Serra da Estrela (DOP e não-DOP).

Tabela 7 – Equação da reta e coeficiente de R² relativamente às correlações entre os parâmetros humidade, proteína e gordura, analisados pelos métodos convencionais e por *Foodscan*.

Tabela 8 – Perfil dos ácidos gordos relativo aos queijos Amarelo da Beira Baixa e Serra da Estrela (DOP e não-DOP) e respetiva análise de variância.

Tabela 9 – Valores médios e desvios padrão das coordenadas L*, a*, b* dos queijos Amarelo da Beira Baixa e Serra da Estrela (DOP e não-DOP) e respetiva análise de variância.

Tabela 10 – Origem botânica da amostra de pólen A e B.

Tabela 11 – Resultados dos parâmetros químicos dos queijos fabricados ao longo do processo de cura.

Tabela 12 –Análise de variância para os queijos fabricados em função do tipo de pólen adicionado, da concentração de pólen usada, do tempo de cura e as interligações entre estes.

Tabela 13 – Médias e desvios padrão dos ácidos gordos dos queijos fabricados durante a maturação dos mesmos.

Tabela 14 – Análise de variância em função do tipo de pólen adicionado, da concentração de pólen usada, do tempo de cura e as interligações entre estes.

Tabela 15 – Médias e desvios padrão das coordenadas de cor dos queijos fabricados.

Tabela 16 – Valores médios e desvios padrão referentes aos parâmetros caracterizadores da textura nos queijos fabricados e respetiva análise de variância.

Lista de Acrónimos

AG – Ácidos Gordos

CATAA – Associação Centro de Apoio Agro Alimentar de Castelo Branco

Cc – Concentração de Pólen

CLA – Ácido Linoleico Conjugado

D - DOP

DOP - Denominação de Origem Protegida

ES – Extrato seco

ESA-IPCB – Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco

GC – Cromatografia Gasosa

HIMG – Humidade Isenta de Matéria Gordas

MGES – Matéria Gordas no Extrato Seco

MUFA – Ácidos Gordos Monoinsaturados

nD – não-DOP

NIR – Near Infra-Red

P – Tipo de Pólen

PUFA – Ácidos Gordos Polinsaturados

SFA – Ácidos Gordos Saturados

T – Tempo de cura

Capítulo I

1. Introdução

O queijo representa um grupo de produtos alimentícios fermentados à base de leite, produzido em todo o mundo numa enorme diversidade de sabores, formas e texturas. Os primeiros laticínios fermentados provavelmente foram produzidos acidentalmente. Alguns “descendentes” desses antigos leites fermentados são atualmente produzidos por tecnologia de base científica, por exemplo, o uso de coalho na produção de queijo é uma das principais aplicações industriais de enzimas. As vantagens decorrentes da capacidade de converter os principais constituintes do leite para o queijo teriam a ver sobretudo com a estabilidade de armazenamento e transporte e, provavelmente, como uma forma de diversificar a dieta humana (Fox et al., 2017).

O queijo, um produto lácteo rico em nutrientes, pode ser consumido como acompanhamento de uma refeição, como ingrediente alimentar ou como uma sobremesa. O queijo é o produto lácteo processado mais abundantemente no mundo sendo que a produção global gira em torno de 23 milhões de toneladas, representando um aumento de 791.000 toneladas entre 2013 e 2014 (Andrade et al., 2018). Novas variedades de queijo continuam a ser desenvolvidas, apesar de já existirem mais de 500 tipos. Este produto lácteo é uma boa fonte de proteínas, vitaminas e minerais, entre outros componentes essenciais que constituem a maior parte dos alimentos altamente consumidos. (El-Bakry et al., 2014).

A composição do queijo é um fator primordial na avaliação nutricional dos queijos e esta varia ao longo do ano, dependendo da lactação e da raça dos animais que fornecem o leite, mas da alimentação destes (Lima et al. 2019). Portanto, é de grande importância avaliar as propriedades do queijo, ou seja, as características do produto final, que contribuem para a qualidade deste alimento. As variedades existentes tornaram-se mais bem definidas e a sua qualidade mais consistente como resultado da melhoria desse conhecimento. (Fox et al., 2017). É classificado de acordo com: o tempo de cura, a textura ou consistência, teor de matéria gorda no resíduo seco (Tabela 1) e sobretudo de acordo com o leite utilizado (NP 1589, 1983). Para além do leite, a produção de queijos conta com a utilização de coalho e adição de sal (Garg et al., 1994; Fox et al., 1993) tal como se pode verificar na Tabela 2.

Tabela 1 - Classificação do queijo tendo em conta a matéria gorda no extrato seco, cura, composição e consistência. (Adaptado da Portaria nº73/90)

| Parâmetro | Classificação |
|---|--|
| Matéria Gorda no Extrato seco (MGES) | Magro ($\leq 10\%$ de MGES) |
| | Pouco Gordo (10 – 25% de MGES) |
| | Meio Gordo (25% - 45% de MGES) |
| | Gordo (45%- 60% de MGES) |
| | Extra Gordo ($> 60\%$ de MGES) |
| Cura | Curado |
| | Curado pela ação de bolores |
| | Fresco |
| Composição | Sem adição de géneros alimentícios diferentes do queijo |
| | Com adição de géneros alimentícios diferentes do queijo |
| Consistência de acordo com a humidade isenta de matéria gorda (HIMG) | De pasta mole ($> 67\%$ de HIMG) |
| | De pasta semimole (61% - 69% de HIMG) |
| | De pasta semidura (54% - 63% de HIMG) |
| | De pasta dura (49% - 56% de HIMG) |
| | Extraduro ($\leq 51\%$ de HIMG) |

Tabela 2 – Matérias primas usadas recorrentemente no fabrico de queijo (adaptado de Garg et al., 1994; Fox et al., 1993).

| | | |
|------------------------|---------------|---------------------------|
| Matérias primas | Leite | Um tipo |
| | | Mistura |
| | Coalho | Origem animal |
| | | Origem vegetal |
| | Sal | Sal para fins alimentares |

1.1 Matérias primas para a produção de queijo

A principal matéria-prima utilizada no fabrico de queijos é o leite. Este pode ser resultado da lactação de pequenos ruminantes, *in estreme* ou em misturas. O leite pode nem ter sofrido qualquer tratamento térmico sendo este o fator de maior relevância para este tipo de produtos, não só como fator da qualidade, mas também como principal fonte de problemas para a tecnologia e para o produto final (Martins et al., 2003, 2004).

Sendo a principal matéria-prima para o fabrico de queijo, é bem evidente que a sua composição nomeadamente no que se refere à riqueza em componentes úteis para o fabrico (fração lipídica e fração proteica, presença de um bom equilíbrio mineral relativamente à presença de cálcio e fósforo que são fundamentais no processo de coagulação enzimática), bem como a sua qualidade microbiológica, irão condicionar fortemente todo o processo tecnológico, sobretudo no que diz respeito ao rendimento e à qualidade do produto obtido (Baião, 2007). A acidez e o pH encontram-se normalmente associados à qualidade higiénica do leite e ao grau de frescura do mesmo, o que fornece algumas indicações sobre as condições de produção e conservação do leite, bem como do estado sanitário dos animais (Vieira Dias et al., 2008). Neste trabalho o foco será nos queijos produzidos com leite ovino e mistura deste com leite caprino.

1.1.1. Leite de cabra

É um líquido branco, de odor e sabor especiais e agradáveis e é conhecido por conter os elementos necessários à nutrição humana, como glúcidos (lactose), proteínas, lípidos, vitaminas, ferro, cálcio, fósforo e outros minerais. É constituído de 0,70 a 0,85% de sais minerais e 3,0 a 3,5% de proteína, sendo superior ao leite de vaca em termos de cálcio, fósforo, potássio, magnésio e ao leite humano nos teores de fósforo, sódio e potássio (Jacopini et al., 2011).

O facto de o leite caprino apresentar uma composição química constituída por proteínas de alto valor biológico e ácidos gordos essenciais, além do seu conteúdo mineral e vitamínico, qualifica-o como um alimento de elevado valor nutricional, ainda representando grande importância na alimentação pelas suas características de hipoalergenicidade e digestibilidade devido aos glóbulos de gordura diminuídos (Costa et al., 2009).

1.1.2. Leite de ovelha

O leite de ovelha é mais rico do que o caprino no que se refere ao teor de proteínas, sendo a fração azotada do leite de ovelha quase na sua totalidade proteica (95%), contendo pouca matéria azotada não proteica (5%). Os constituintes proteicos são maioritariamente caseínas (α , β , κ), correspondendo a 78-83%, e os restantes são proteínas de soro, essencialmente β -lactoglobulina e α -lactalbumina, mas também outras como imunoglobulinas, albumina do soro, lactoferrina, entre outras (Park et al., 2007).

O leite de ovelha possui gordura em maior quantidade que as outras espécies pecuárias sendo os seus lípidos constituídos maioritariamente por glicéridos (98%) na forma de triglicéridos de cadeia média, mas também outros lípidos simples (monoglicéridos, diglicéridos), lípidos complexos (fosfoglicéridos) e componentes lipossolúveis (colesterol e hidrocarbonetos). Em geral, o leite de ovelha contém 0,9% minerais, possuindo alguns elementos minerais em quantidades superiores, tais como cálcio, fósforo, magnésio, zinco e ferro (Park et al., 2006).

1.2. Queijo: Aspetos Nutricionais

1.2.1. Humidade

A humidade da maioria dos queijos curados é condicionada pela taxa e a duração da sinérese e pela compactação da estrutura da fração de caseínas. Após a coagulação, os processos seguintes, como moldagem, prensagem e salga, que diferem conforme o tipo de queijo, são acompanhados por uma diminuição do pH e originam uma perda de humidade considerável, através da remoção do soro (Tenreiro, 2014).

1.2.2. Extrato seco

Conhecer o teor de extrato seco (ES) é importante para a transformação do leite em queijo. O resíduo seco total representa os sólidos do leite, os glúcidos (lactose), a matéria gorda, as proteínas (caseínas), os biocatalizadores e os sais minerais (principalmente o cálcio e o fosforo), e varia não só com as espécies leiteiras, mas também com a raça das mesmas. Quanto mais elevado for a percentagem de extrato seco, mais rico será o leite e maior será o rendimento durante a produção (Luquet, 1985).

1.2.3. Proteína

A importância nutricional do queijo decorre de seu alto teor de proteínas. O conteúdo proteico de diferentes variedades de queijo varia entre 20 e 35%. Uma porção de 100 g de queijo macio fornecerá 30 - 40% das necessidades diárias de proteína de um adulto e 100 g de um queijo duro fornecerá cerca de 40-50% (Renner, 1993). No fabrico de queijo, a caseína do leite mantém-se incorporada no queijo enquanto que a maioria das proteínas de soro de leite com valor biológico passam para o soro. Assim, 75-80% da proteína total e cerca de 95% da caseína são transferidos do leite para o queijo fresco. Portanto, em queijos produzidos a partir de leite pasteurizado, o conteúdo de proteína de soro de leite na proteína total do queijo é de 4 - 6%. Como as proteínas do soro são nutricionalmente superiores à caseína (que é um tanto deficiente em aminoácidos de enxofre), o valor biológico das proteínas no queijo é um pouco menor do que a proteína total do leite, mas ainda assim é superior ao valor da caseína sozinho. O valor biológico das proteínas não é prejudicado pela ação do coalho ou de outras enzimas ativas durante a cura do queijo, nem é afetado pela formação de ácido láctico (Renner, 1993).

1.2.4. Gordura

Ajustando o teor de gordura do leite usado na produção de queijo, queijos de diferentes teores de gordura podem ser produzidos. Os queijos frescos têm um teor de gordura de até 12%, enquanto os queijos curados, em geral, contêm entre 20 e 30%. O aroma típico de alguns queijos desenvolve-se apenas quando o teor de gordura em matéria seca é de pelo menos 40-50% porque o aroma é devido principalmente aos produtos da decomposição da gordura formada durante a maturação do queijo. A produção de queijos com baixo teor de gordura oferece grandes oportunidades de comercialização de novos produtos considerados “saudáveis” (Renner, 1993).

1.2.5. Ácidos Gordos

Existe uma relação próxima entre o conteúdo de ácidos gordos voláteis livres em várias variedades de queijo e o seu sabor (Renner, 1993). A análise da composição de ácidos gordos (AG) é essencial para a avaliação da qualidade nutricional da fração lipídica em alimentos (Ana, 2008) e é amplamente aceite que vários ácidos gordos livres contribuem diretamente para as características de sabor de muitos tipos de queijo (Macedo, 1996). Leite e laticínios, principalmente queijo, são geralmente associados a altos níveis de AG saturados de cadeia longa, principalmente ácido palmítico e esteárico. No caso do leite de ovelha e queijo, os lípidos presentes apresentam valores mais elevados de triacilgliceróis de cadeia média, constituídos por AG com 6–10 átomos de carbono, especialmente ácido cáprico. Esses AG voláteis são geralmente libertados durante o amadurecimento do queijo e, embora apenas em baixos níveis, são responsáveis pelo característico sabor dos queijos de ovelha e de cabra (Ana, 2008).

A gordura do queijo geralmente contém aproximadamente 66% de ácidos gordos saturados (SFA), cujo ácido palmítico representa cerca de 57,4%, seguido pelo ácido mirístico (21,6%) e esteárico (17,6%); aproximadamente 30% de ácidos gordos monoinsaturados (MUFA), e 4% de ácidos gordos polinsaturados (PUFA) (Verruck et al., 2019). Quanto aos MUFA, estes são representados principalmente pelo ácido oleico (18:1), com cerca de 23,8% dos ácidos gordos totais. Relativamente aos PUFA, os constituintes principais destes são o ácido linoleico (18:2) e o ácido linolénico (18:3), representando cerca de 1,6 e 0,7% do total de ácidos gordos, respetivamente (Månsson, 2008). Portanto, o queijo representa uma fonte dietética significativa de gordura total e SFA (Verruck et al., 2019). A gordura do queijo também contém componentes que revelam potenciais efeitos benéficos na saúde, sendo estes os ácidos gordos insaturados, incluindo, por exemplo, ácido linoleico conjugado (CLA) (Lima et al., 2019).

1.2.6. Sódio e teor de sal

O queijo contribui para a ingestão total de sódio apenas em pequena escala, mesmo em países com alto consumo deste alimento. A ampla variação do conteúdo de sódio é devida às diferentes quantidades de sal adicionado a queijos (Guiné et al., 2016) e também ao modo como este se adiciona: através do seu espalhamento sobre toda a superfície do queijo após o fabrico, pela mistura de sal diretamente na coalhada ou no leite, ou por imersão dos queijos numa salmoura, local onde permanecem mais ou menos tempo, tendo em conta o teor de sal da mesma e o tamanho dos queijos (Caderno de Especificações queijos da Beira Baixa, s/d). O sal, por um lado, contribui diretamente para o sabor, mas por outro lado também influencia na maturação, principalmente pelo seu efeito na atividade da água, controlando assim a atividade microbiana e enzimática, e também tendo influência no teor de humidade e textura do queijo (Guiné et al., 2016).

1.2.7. Hidratos de carbono

Dos hidratos de carbono presentes em produtos lácteos destaca-se a lactose, no entanto, não há lactose em muitos queijos ou apenas uma concentração muito baixa (1-3 g/ 100 g) porque a maior parte da lactose do leite passa para o soro, perdendo-se na etapa de escoamento/dessoramento. Ainda que uma percentagem fique retida na coalhada, esta é parcialmente ou totalmente convertida em ácido láctico durante a maturação do queijo (Jarvis et al., 2002). Portanto, o queijo é um alimento adequado para a dieta de pessoas que sofrem de má absorção de lactose e de diabéticos (Renner, 1993).

1.3. Queijo: efeitos benéficos na saúde

Devido a algumas evidências negativas, os SFAs são considerados prejudiciais para a saúde, influenciando o nível de colesterol nos lípidos do sangue. Um aumento de colesterol total no plasma é um dos efeitos de SFAs geralmente com comprimentos de cadeia médios (ácido palmítico, láurico e mirístico) e não tanto daqueles com cadeia mais longa (ácido esteárico, por exemplo). Além disso, o ácido esteárico, que é um componente representativo dos SFAs no queijo, é rapidamente convertido em ácido oleico (C18: 1), e sendo este um MUFA, é considerado uma das fontes mais saudáveis de gordura na dieta (Verruck et al., 2019). O ácido linoleico conjugado (CLA) entre outros, contribuem para a redução do risco de doenças cardiovasculares e até apresentam efeitos anticancerígenos (Lima et al., 2019). É importante notar que alguns SFA têm um papel importante na regulação celular por acetilação de proteínas, na expressão génica, bem como na modulação da regulação genética e na regulação da biodisponibilidade de PUFA (Markey et al., 2017). Além disso, sabe-se que o ácido butírico pode desempenhar um papel na prevenção do cancro, que os ácidos caprílico e cáprico têm atividades antivirais e o ácido láurico também apresenta potencial antimicrobiano. Para além das propriedades mencionadas, foi observado em estudos com animais e humanos que o queijo pode proteger contra cáries dentárias, podendo concluir-se que o queijo possui também propriedades anticariogénicas (Verruck et al., 2019).

1.4. Queijo e microrganismos

A Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos concluiu que 4,8% dos surtos de origem alimentar que ocorreram na União Europeia em 2016 foram associados a queijos. Isso indica que o queijo é uma potencial fonte de doenças transmitidas por vários microrganismos (Ganz et al., 2020), no entanto, alguns podem também ter um papel benéfico na saúde e até a preservar as características organolépticas deste alimento (Fox et al., 2004). Seguidamente encontram-se descritos vários microrganismos que podem estar presentes em queijos.

Salmonella

Salmonella spp. continuam a figurar com destaque em muitos registos epidemiológicos nacionais como a principal causa de doenças bacterianas transmitidas por alimentos. A ingestão de produtos lácteos também tem sido causa principal em surtos de salmonelose humana, devido à ampla ocorrência de *Salmonella* e outras bactérias patogênicos no leite cru e na fabricação de uma variedade de queijos de leite fluido tratado termicamente (não pasteurizado) (Modi et al., 2001). Picos de febre e

cólicas abdominais juntamente com bacteremia, diarreia aquosa e dor abdominal são sintomas da infecção provocada por *Salmonella* spp. (Germano et al., 2001).

Staphylococcus aureus

As bactérias do género *Staphylococcus* são cocos gram-positivos, catalase positivo pertencentes à família *Staphylococcaceae*, anaeróbias facultativas, mas com maior crescimento sob condições aeróbias. Estes microrganismos são resistentes ao dessecamento, sendo disseminados por partículas de poeira presentes no ar e nas superfícies (Madigan, 2004; Franco et al., 2005). As suas colónias apresentam uma coloração cinza ou prateada em meios ricos e desenvolvidas a 37 °C (Schoeller et al., 2001). Sobrevivem a concentrações de sal entre 10% a 20%. *Staphylococcus* coagulase positivos multiplicam-se a temperaturas compreendidas entre 7,0 e 47,8°C, com temperatura ótima de 37 °C; sendo as toxinas produzidas entre 10 e 46 °C, com temperatura ótima de 40 a 45 °C (Charlier et al., 2008). Embora *S. aureus* cresça em meios de cultura sem NaCl, pode multiplicar-se em concentrações de 7 a 10%, sendo que algumas estirpes podem crescer em 9 até 20% de sal. *Staphylococcus aureus* produz um ou mais enterotoxinas termoestáveis que foram implícitas citado em surtos de intoxicação alimentar. Um alimento em que *S. aureus* pode crescer e produzir enterotoxinas é o queijo (Huong et al., 2009). Após o consumo dos alimentos contaminados por *S. aureus*, os sintomas aparecem de 1 a 6 horas e incluem náusea intensa, vômito e diarreia moderada, normalmente sem febre (Ortega et al., 2010).

Coliformes totais

O grupo de coliformes totais inclui bactérias gram-negativas não esporuladas, fermentadoras de lactose, com produção de ácido e gás em faixa de temperatura que varia entre 32 e 37°C. Este grupo é composto por bactérias de vários géneros e inclui *Escherichia*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Erwinia* e *Enterobacter* (Novak et al., 2002).

Escherichia coli

A *E. coli* é uma bactéria pertencente ao grupo dos coliformes, que tem como habitat primário o intestino humano e de animais de sangue quente, representando 95% das bactérias do grupo coliformes encontradas nas fezes humanas e de animais. É uma bactéria de fácil isolamento e identificação em água e o seu período de sobrevivência é semelhante ao dos patógenos mais comuns, pelo que a *E. coli* é considerada a melhor indicadora de contaminação fecal (Marquezi et al., 2010).

Enterobactérias

Enterobacteriaceae é uma família de bactérias Gram-negativas, algumas pertencem à microbiota intestinal normal de humanos e animais, como a *Escherichia coli*, enquanto outras existem no solo ou na água, podendo estar implicadas em vários processos patogénicos, como é o caso dos membros dos géneros *Salmonella*, *Shigella* e *Yersinia*. Assim, a utilização das enterobactérias como indicadores das condições sanitárias em alimentos é praticada há anos. As enterobactérias são considerados microrganismos indicadores da segurança microbiológica de alimentos em várias partes do mundo (Adams et al., 2008).

Bactérias Ácido Lácticas (BAL)

Estas bactérias contribuem para o desenvolvimento das características sensoriais desejáveis e preservam a qualidade do queijo. Em muitos casos esta preservação dá-se pela competição com microrganismos deteriorantes e até patogénicos. As BAL fermentam hidratos de carbono, produzindo ácido, e são consideradas as principais responsáveis pela acidificação do queijo, favorecendo a sua conservação. As bactérias ácido-lácticas (BAL) são microrganismos gram-positivos, não esporulados, catalase-negativos, anaeróbios, mas aerotolerantes e ácido-tolerantes (Holzapfel et al., 2001). Algumas das BAL associadas ao queijo incluem espécies do género *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* e *Leuconostoc* (Fox et al., 2004). A principal função das BAL nos alimentos é a acidificação a um pH próximo de 4, que impede o desenvolvimento de bactérias indesejáveis pela produção de ácidos orgânicos, permitindo que o período de conservação dos produtos fermentados seja maior que o dos produtos onde a matéria-prima não é fermentada. De entre as várias características associadas às bactérias lácticas, particularmente à espécie *Lactobacillus casei*, destaca-se, também, o facto de estas possuírem atividade contra microrganismos patogénicos, contaminantes e deteriorantes alimentares (Schwenninger et al., 2005; Calderón et al., 2007).

Mesófilos totais

Os mesófilos são aeróbios e poucos se conseguem desenvolver em temperaturas inferiores a 7° C. A sua contagem tem sido usada como indicador de qualidade higiénica dos alimentos e, quando presente em grande número, indica falhas durante a produção dos mesmos (CARDOSO et al., 2005).

Listeria monocytogenes

Listeria monocytogenes é uma bactéria patogénica, aeróbia, gram positiva não esporulada, que provoca listeriose em humanos, doença com um período de incubação de 5 a 30 dias. A sua importância está relacionada com a sua ampla distribuição no meio ambiente e suas características fisiológicas como a resistência a ambientes ácidos e cloreto de sódio, a capacidade de sobreviver por longos períodos em condições adversas, de criar biofilmes e aderir a superfícies, o que torna esta bactéria um fator preocupante para a indústria alimentar. A indústria dos queijos (e outros produtos lácteos), tem sido associada a casos e surtos de listeriose em vários países durante as últimas décadas. A contaminação dos queijos por *L. monocytogenes* está relacionada, sobretudo, com o leite usado no fabrico ou com o ambiente de processamento tendo assim, como principais vias de introdução o leite cru, o ar, os utensílios e equipamentos contaminados, os pisos da sala de produção, as prateleiras da sala de maturação, o vestuário dos trabalhadores, o sistema de ventilação, os carros de transporte, entre outros fatores. Os queijos são comumente contaminados por esta bactéria, principalmente os que apresentam teores de humidade médios e elevados (Gérard et al., 2018).

Bolores e leveduras

A presença de vários tipos de bolores também é indesejável, visto que podem influenciar as características organoléticas dos queijos ao produzirem micotoxinas, representando um potencial risco para a saúde (Guterres, 2014).

Objetivos

Este projeto dividir-se-á em duas partes, sendo que cada uma consistirá num trabalho distinto. A primeira parte corresponde ao capítulo II e intitula-se “Caracterização físico-química de queijos DOP e não-DOP da região da Beira Interior”.

Para esta primeira parte o objetivo é verificar se existem diferenças significativas, nos parâmetros físico-químicos, entre queijos com certificação DOP (Denominação de Origem Protegida) e queijos sem certificação, através de análises nutricionais, análises pelo equipamento de *Foodscan* (NIR).

Um dos tipos de queijo analisados foi o queijo Amarelo da Beira Baixa e os resultados referentes ao mesmo foram incluídos num poster com o título *Characterization of physicochemical parameters of “Amarelo da Beira Baixa”* que se encontra em anexo. Este poster foi exposto num congresso internacional: *International Conference on Multidisciplinary Research* (CMR)

A segunda parte do projeto, descrita no capítulo III, conta com a denominação “Laboração e análise de queijo Amarelo da Beira Baixa não-DOP com pólen de abelha incorporado”. Os objetivos deste trabalho passam pelo fabrico de queijos, seguindo as especificações do queijo Amarelo da Beira Baixa, mas neste caso, incorporando pólen de abelha e consequente avaliação das características dos queijos produzidos.

Devido aos efeitos da pandemia provocada pela Covid-19 e atrasos na obtenção de materiais de laboratório, esta dissertação apenas contará com procedimentos e resultados de análises polínicas do ingrediente pólen e físico-químicas aos queijos fabricados.

Descrição da empresa

Estes dois projetos descritos anteriormente nos objetivos foram maioritariamente desenvolvidos numa empresa do ramo agro-alimentar, mais especificamente na CATAA, em Castelo Branco.

A CATAA - Associação Centro de Apoio Tecnológico Agro-Alimentar de Castelo Branco, é uma associação sem fins lucrativos, de natureza privada, constituída em julho de 2010. Detida na sua maioria pelo Município de Castelo Branco, tendo como associados o Instituto Politécnico de Castelo Branco e a Associação do Cluster Agroindustrial do Centro. O CATAA é constituído por três unidades laboratoriais (físico-química, microbiologia e análise sensorial) e por quatro unidades de desenvolvimento tecnológico (lácteos, carnes, azeites e hortofrutícolas).

As análises físico-químicas nutricionais de ambas as partes do projeto foram efetuadas no laboratório de físico-química, desta empresa, no qual se encontram equipamentos recentes, usados na análise de várias matrizes alimentares. Este laboratório é acreditado pelo IPAC, pela NP EN ISO/IEC 17025:2018 (LO688) desde 2016, participando em múltiplos ensaios interlaboratoriais, assegurando a fidedignidade dos ensaios e análises que aqui se efetuam. O laboratório divide-se em áreas distintas: sala de pesagens; sala de lavagens; técnicas rápidas e clássicas; cromatografia líquida; cromatografia gasosa; espectrometria de absorção atómica; ICP-OES (*Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry*).

Relativamente ao fabrico dos queijos, este foi desenvolvido na unidade piloto de lácteos que é uma unidade de desenvolvimento tecnológico capacitada de diversos equipamentos que não só proporcionam o desenvolvimento e produção de novos produtos à escala piloto (queijo, requeijão, manteiga), como também possibilitam a otimização de processos de fabrico. Nesta unidade é igualmente possível monitorizar e acompanhar o processo de maturação de queijos, uma vez que dispõe de 3 câmaras de refrigeração.

Capítulo II

2. Caracterização Físico-Química de Queijos DOP e não-DOP da região da Beira Interior

2.1. Revisão Bibliográfica

2.1.1. Produtos com certificação de Denominação de Origem Protegida (DOP)

A designação DOP significa “Denominação de origem protegida” e é um nome geográfico ou equiparado que designa e identifica um produto originário desse local ou região, cuja qualidade ou características se devem essencial ou exclusivamente ao meio geográfico específico, incluindo fatores naturais e humanos, cujas fases de produção têm lugar na área geográfica delimitada (Tibério et al., 2001). Além do produtor e consumidor, o valor acrescentado que é gerado ou alegadamente gerado por um produto que beneficie de DOP (neste caso) também ele é distribuído ao longo da cadeia alimentar, afetando outros agentes a jusante tais como, transformadores locais, retalhistas, etc.

Existem várias vantagens evidentes, tanto do ponto de vista do consumidor como do produtor, relativamente ao fabrico e à compra de um produto com esta certificação. Algumas destas vantagens são por exemplo:

- ✓ Fornecer aos consumidores garantias acerca da sua origem, da sua especificidade e tipicidade e do modo e saber fazer tradicional, garantindo um reconhecimento da qualidade dos produtos;
- ✓ Proteger os nomes dos produtos contra imitações e utilizações indevidas;
- ✓ Promover condições de concorrência leal entre os produtores.

Todavia, um produto DOP encontra também algumas limitações, sendo estas (Comissão Europeia, 2007):

- ✓ Custos de marketing direto muito elevados e/ou a maioria dos programas têm orçamentos reduzidos, sendo que estas adaptações e exigências podem estar fora do alcance das pequenas e médias empresas;

- ✓ As exigências dos consumidores levam tempo a ser construídas e os programas de certificação são muitas vezes criados e estabelecidos antes mesmo de existir procura pelos consumidores;
- ✓ Desconhecimento por parte dos consumidores do significado do selo ou da etiqueta de certificação;

Assim, após a menção da última limitação, referente ao desconhecimento dos consumidores da denominação DOP, compreende-se que seja do interesse dos produtores que exista um reconhecimento do selo ou etiqueta de certificação, assumindo este a forma do logotipo observado na Figura 1:



Figura 1 - Logotipo da marca de Denominação de Origem Protegida (DOP) (Comissão Europeia, s/d)

2.1.2. Queijos com Denominação de Origem Protegida em Portugal

Alguns dos queijos fabricados com leite cru de ovelha, cabra ou vaca possuem o estatuto de denominação de origem protegida (DOP) sendo alguns elaborados em zonas muito restringidas e com tradição de vários séculos (União Europeia, 2012). Existem vários queijos detentores do selo de denominação de origem protegida, de norte a sul do território português. Esses queijos são 13, atualmente: queijo de Azeitão DOP, queijo de Cabra Transmontano DOP, queijo de Évora DOP, queijo de Nisa DOP, queijo do Pico DOP, queijo Rabaçal DOP, queijo São Jorge DOP, queijo Serpa DOP, queijo Serra da Estrela DOP, queijo Terrincho DOP, queijos da Beira Baixa DOP (Queijo de Castelo Branco, Queijo Picante da Beira Baixa e Queijo Amarelo da Beira Baixa) (INIAV, 2017).

2.1.3. Queijos com Denominação de Origem Protegida na região da Beira Interior

Os queijos tradicionais da região da Beira Interior têm uma grande importância socioeconómica, devido ao número bastante 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)., garantindo a segurança alimentar através de boas práticas de higiene desde o local onde se encontram os animais dos quais se recolhe o leite, até ao local de produção e maturação dos queijos (Caderno de Especificações queijos da Beira Baixa, s/d).

De entre os queijos DOP produzidos no território português, destacam-se os seguintes queijos da região da Beira Interior: o queijo produzido com leite cru de ovelha (Serra da Estrela) e mistura de leite de ovelha e cabra (Amarelo da Beira Baixa). A produção de queijos com DOP na Região Centro corresponde a 20,6% da produção nacional de queijos com DOP. Dos 311254 kg de queijos com DOP produzidos a nível nacional em 2018, 48,6% foram queijos da Beira Baixa (151190 kg), e 48,4% foram queijos Serra da Estrela (150750 kg) (DGADR, 2019). De entre os Queijos da Beira Baixa DOP, o Queijo Amarelo da Beira Baixa representa 52,6% do total produzido em 2018.

2.1.3.1. Queijo Amarelo da Beira Baixa:

Características Físico-Químicas

O queijo Amarelo da Beira Baixa conta com uma altura de 3-5 cm, um peso de 0,6-1 kg e possui um diâmetro de 12-16 cm. Tem a forma de um cilindro baixo (prato), regular, com ligeiro abaulamento lateral bordos mais ou menos definidos. Relativamente à sua crosta esta é de uma consistência semidura, aspeto bem formado, fino e inteiro e a cor é o amarelo ou amarelo torrado. Relativamente à pasta, esta possui uma textura semi-dura ou semi-mole, fechada e medianamente amanteigada. O aspeto é untuoso com alguns olhos irregulares. A cor da pasta é ligeiramente amarelada, uniforme e este queijo possui um intenso sabor limpo e ligeiramente acidulado. A humidade deve estar compreendida entre 54-69 % relativamente ao queijo isento de matéria gorda e a gordura entre 45-60 % no que se refere ao resíduo seco. É usada uma temperatura de coagulação de 27 - 36 ° C sendo que esta fase do processo ocorre durante 30 – 60 minutos (Caderno de Especificações queijos da Beira Baixa, s/d).

Área geográfica

A produção de leite e o fabrico do Queijo da Beira Baixa, incluindo a maturação e cura, têm lugar na área geográfica delimitada (Figura 2). A área geográfica de produção fica circunscrita a todas as freguesias dos concelhos de Castelo Branco, Fundão, Belmonte, Penamacor, Idanha-a-Nova, Vila Velha de Rodão, Proença-a-Nova, Vila de Rei, Sertã, Oleiros, Mação e às freguesias de Aldeia de São Francisco, União das Freguesias de Barco e Coutada, Boidobra, União das freguesias de Casegas e Orondo, União das freguesias de Covilhã e Canhoso, Dominguiso, Ferro, Orjais, Peraboa, União das freguesias de Peso e Vales do Rio, São Jorge da Beira, Sobral de São Miguel, União de freguesias de Teixoso e Sarzedo, Tortosendo, União das freguesias de Vale Formoso e Aldeia do Souto do concelho da Covilhã (Caderno de Especificações queijos da Beira Baixa, s/d).



Figura 2 – Área geográfica da Região da Beira Baixa, destacada a cor de laranja (Imagens Região da Beira Baixa).

Matérias primas

O queijo Amarelo da Beira Baixa resulta do esgotamento da coalhada após coagulação de leite cru de ovelha Merina ou outras raças de ovelhas bem-adaptadas à região e leite cru de cabra raça Charnequeira ou outras raças de cabras bem-adaptadas à região mencionada anteriormente. Para além do leite, este queijo também conta com sal para fins alimentares, coalho de origem animal ou cardo (*Cynara cardunculus* L.) e água potável. A quantidade de leite usado na confeção destes queijos é 100% de leite ovino ou uma mistura de 50% de leite ovino com 50% de leite caprino (Caderno de Especificações queijos da Beira Baixa, s/d).

Condições de fabrico e maturação

O queijo Amarelo da Baixa é curado por um mínimo de 40 dias em câmaras de maturação sob condições ambientais naturais ou controladas Segundo Santos (1996), cada queijo Amarelo da Beira Baixa requer uma média de 4 L de leite (coagulado a 30 ° C e por 43 min), que por sua vez produz um queijo curado com cerca de 1 kg após 45 dias (Freitas et al., 2000) sendo que a temperatura de cura deve ser aproximadamente de 8 – 14 ° C e a humidade relativa cerca de 74 – 98 %.

2.1.3.2. Queijo Serra da Estrela

O queijo Serra da Estrela é o mais famoso de todos os tradicionais queijos portugueses devido sobretudo às suas características organolépticas únicas, tornando-se um elemento crucial do rico património cultural português, mais precisamente da Beira Interior (Freitas et al., 2000).

Características Físico-químicas

O queijo Serra da Estrela é um queijo de ovelha curado, de pasta semi-mole, amanteigada, branca ou ligeiramente amarelada, com poucos ou nenhuns “olhos”, obtido por dessoramento lento da coalhada, depois da coagulação do leite. Tem a forma de um cilindro baixo e regular, com abaulamento lateral e ligeiro na face superior e sem bordos definidos, apresenta uma consistência maleável, permitindo alguma flutuação. Tem uma textura amanteigada, deformável ao corte, bem ligada, cremosa e untosa. Possui um aroma suave, limpo e ligeiramente acidulado (Tenreiro, 2014). Apresenta, em resíduo seco, um teor de humidade de 61% a 69% (isento de matéria gorda), um teor de gordura entre 45% e 60%, um teor de proteína de 26-3% e um teor de cinza de 5 a 6,5 % (Caderno de Especificações do queijo Serra da Estrela, s/d).

Área geográfica

A área geográfica de produção e transformação da matéria-prima (leite), maturação, armazenagem prolongada, corte e acondicionamento do queijo está circunscrita aos concelhos de Carregal do Sal, Celorico da Beira, Fornos de Algodres, Gouveia, Mangualde, Manteigas, Nelas, Oliveira do Hospital, Penalva do Castelo e Seia e às freguesias de Carapito, Cortiçada, Dornelas, Eirado, Forninhos, Pena Verde e Valverde, do concelho de Aguiar da Beira, às freguesias de Anceriz, Barril do Alva, Cerdeira, Coja, Pomares e Vila Cova do Alva, do concelho de Arganil, às freguesias de Aldeia de Carvalho, Cortes

do Meio, Erada, Paul, Sarzedo, Unhais da Serra e Verdelhos, do concelho da Covilhã, às freguesias de Aldeia Viçosa, Corujeira, Cavadoude, Faia, Famalicão, Fernão Joanes, Maçainhas de Baixo, Meios, Mizarela, Pêro Soares, Porto da Carne, São Vicente, Sé, Seixo Amarelo, Trinta, Vale de Estrelas, Valhelhas, Videmonte, Vila Cortez do Mondego, Vale Amoreira e Vila Soeiro, do concelho da Guarda, às freguesias de Midões, Póvoa de Midões e Vila Nova de Oliveirinha, do concelho de Tábua, às freguesias de Canas de Santa Maria, Ferreirós do Dão, Lageosa Tonda, Lobão da Beira, Molelos, Mosteiro de Fráguas, Nadufe, Parada de Gonta, Sabugosa, São Miguel de Outeiro e Tondela, do concelho de Tondela, às freguesias de Aldeia Nova, Carnicães, Feital, Fiães, Freches, Santa Maria, São Pedro, Tamanhos, Torres, Vila Franca das Naves e Vilares, do concelho de Trancoso, e às freguesias de Fragosela, Povolide, São João de Lourosa e Loureiro de Silgueiros, do concelho de Viseu (Caderno de Especificações do queijo Serra da Estrela, s/d).

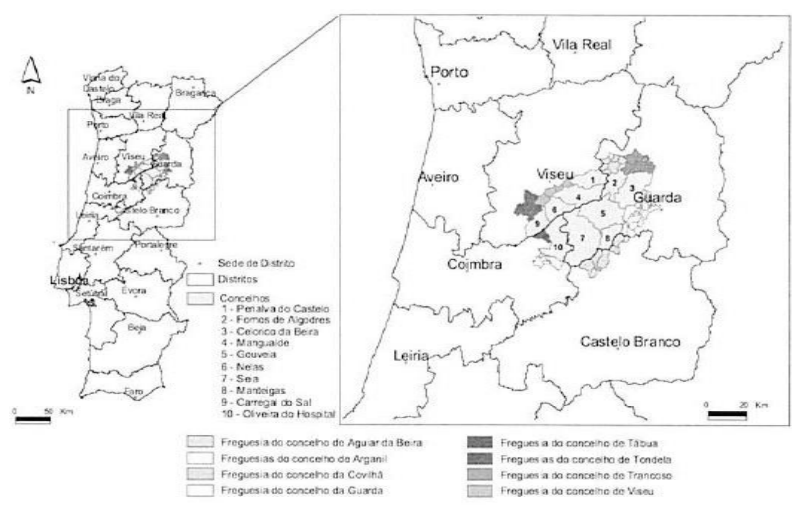


Figura 3– Área geográfica da região da Serra da Estrela (Caderno de Especificações do queijo Serra da Estrela, s/d).

Matérias-primas

Feito com leite de ovelha, cru e estreme, da raça Bordaleira, variedade Serra da Estrela ou da raça Churra Mondegueira, sal para fins alimentares e coalho de origem vegetal, mais precisamente do cardo (*Cynara cardunculus* L.) (Caderno de Especificações do queijo Serra da Estrela, s/d).

Condições de fabrico e maturação

É produzido a 2.000 m de altura, numa região caracterizada por invernos longos, frios, chuvosos e com neve, mas verões quentes e secos. Os estudos disponíveis relativos a este tipo de queijo indicam que a melhor temperatura de coagulação é 27-29 ° C, o que requer um tempo médio de coagulação de

60 min (Freitas et al., 2000). A maturação deste queijo é lenta, a temperaturas baixas que segundo Freitas et al. (2000) ajuda a controlar a contaminação microbiana entre 6 e 12°C e humidade relativa elevada que varia entre 85 e 90%, sendo o tempo mínimo de cura de 30 dias (Dec. Regul. 42/85 de 05 de julho).

2.1.4. Técnicas de análise

As características físico-químicas de produtos lácteos podem ser alteradas por vários fatores, incluindo genética do rebanho, saúde, alimentação e condições ambientais, entre outros (Andrade et al., 2018). A maturação do queijo envolve várias reações bioquímicas, levando ao desenvolvimento dos atributos sensoriais únicos para cada variedade de queijo. A formação de péptidos e aminoácidos livres tem um impacto direto no sabor e na textura, devido à quebra da rede de proteínas. Métodos usuais de análise da composição do queijo são demorados e caros. Há por isso a necessidade de novas metodologias para observar as mudanças durante o processo de maturação (Andrade et al., 2018).

2.1.4.1. NIR - *Near Infra-Red*

A caracterização química dos queijos tem sido tradicionalmente realizada por diferentes análises físico-químicas para determinar o pH, teor de gordura, frações de azoto, ácidos gordos voláteis, ácidos orgânicos, etc. Esses métodos podem ser trabalhosos e caros pelo que o desenvolvimento de novos métodos para a determinação destes parâmetros químicos é de elevada importância. É necessário que a indústria de processamento de queijo consiga efetuar, em tempo real, um controle eficiente das linhas de produção para verificar se o material em processo, durante uma determinada etapa, atende por exemplo à composição necessária para atingir um padrão de qualidade predeterminado no produto final. As técnicas espectroscópicas são métodos sensíveis, não destrutivos, rápidos, ecológicos, de custo relativamente baixo e não invasivos, tornando-os adequados para diversas análises e controle de processo em linha, posto isto, uma técnica que pode ser aplicada neste tipo de análises é a espectroscopia de infravermelho próximo (NIR). Além disso, os coeficientes de absorção relativamente baixos exibido por muitas espécies na região NIR implicam que as amostras podem frequentemente ser examinadas pelo NIR diretamente, sem a necessidade de diluição em algum meio inerte e não absorvente (Karoui et al., 2006). O setor agroalimentar foi o primeiro a adotar a espectroscopia NIR como uma técnica analítica (Blanco et al., 2002). A espectroscopia NIR tem sido aplicada na caracterização físico-química de diversos produtos alimentares (Woodcock et al., 2008). Uma rápida monitorização do fabrico de queijos é essencial para obter produtos de alta qualidade com o mínimo de custos associados. A espectroscopia NIR pode ainda ser usada para a estimativa da composição do leite cru em queijos duros e semiduros (Curda et al., 2004).

2.2. Materiais e métodos

2.2.1. Análises Físico-Químicas

As análises nutricionais, referentes à caracterização físico-química dos queijos DOP e não-DOP foram realizadas na Associação Centro de Apoio Tecnológico Agro-Alimentar de Castelo Branco (CATAA).

2.2.1.1. Determinação do teor de humidade

O teor de humidade foi determinado pelo procedimento técnico PT.LFQ.0406. Este consistiu na secagem das amostras a $(100 \pm 3)^\circ\text{C}$ (sob vácuo) durante 4 horas, até peso contante.

$$\text{Teor de humidade (\%)} = \frac{(m_{\text{amostra}} + m_{\text{cadinho}} - m_{\text{seca final}})}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (1)$$

Em que:

m_{amostra} = massa da amostra pesada (em g)

m_{cadinho} = massa do cadinho (em g)

$m_{\text{seca final}}$ = massa da amostra após secagem na estufa (em g)

2.2.1.2. Determinação do teor de extrato seco

O extrato seco, o teor de humidade isenta de matéria gorda e a matéria gorda no extrato seco são determinados usando um software por aplicação das seguintes equações:

$$\text{Extrato seco (\%)} = 100 - \text{Teor de humidade} \quad (2)$$

$$\text{HIMG (\%)} = \left[\frac{\text{Teor de humidade}}{100} - \text{Teor de gordura} \right] \times 100 \quad (3)$$

$$MGES (\%) = \frac{\text{Teor de gordura}}{\text{Extrato seco}} \times 100 \quad (4)$$

2.2.1.3 Determinação do teor de cinzas

A determinação do teor de cinzas foi efetuada segundo o procedimento interno PT.LFQ.0409. Este método gravimétrico consiste na secagem, carbonização e incineração a (550 ± 25) °C da amostra, seguido de arrefecimento e determinação da massa do resíduo. No fim do processo a cinza total refere-se ao resíduo após a incineração de matéria orgânica. (Tenreiro, 2014).

$$\text{Teor de Cinzas (\%)} = \frac{(m_1 - m_2)}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (5)$$

Em que:

m_2 = massa final do cadinho de porcelana

m_1 = massa inicial do cadinho de porcelana

m_{amostra} = massa da amostra a analisar

2.2.1.4. Determinação do teor de proteína

O teor de proteína foi determinado segundo o método interno PT.LFQ.0105. O método Kjeldahl consiste na mineralização da amostra em meio ácido (ácido sulfúrico), a quente, na presença de uma mistura catalisadora (kjeltabs Cu/3,5). A digestão conduz a conversão de todo azoto orgânico em ião amónio, que é posteriormente convertido em amónia, por adição de hidróxido de sódio. De seguida, destilado em corrente de vapor e recolhido numa solução de ácido bórico onde é doseado, por titulação, com ácido clorídrico de título conhecido.

A percentagem de azoto é calculada através da equação (6):

$$\% \text{Azoto} = \frac{(vs - vb) \times N \times 14,01}{m \times 10} \quad (6)$$

Vs – Volume da solução volumétrica de ácido clorídrico gasto na titulação (mL);

Vb - Volume da solução volumétrica de ácido clorídrico gasto no branco (mL);

N – Concentração da solução volumétrica de ácido clorídrico (M);

m– Massa da amostra a analisar (g).

A percentagem de proteína é calculada de acordo com a equação (7):

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Azoto} \times F \quad (7)$$

Sendo que F é o fator de conversão de azoto em proteína, que corresponde a 6,38 para leites e produtos lácteos.

2.2.1.5 Determinação do teor de gordura

Aplicou-se o método de Van Gulik (NP 2105:1983) que consistiu na separação e quantificação da matéria gorda com ácido sulfúrico e álcool isoamílico. O ácido sulfúrico serviu para desnaturar as proteínas que se encontravam ligadas à matéria gorda e o álcool isoamílico favoreceu a separação da matéria gorda.

$$\text{Teor de Gordura (\%)} = \frac{(\text{Teor sup.} - \text{Teor inf.}) \times 3}{m} \quad (8)$$

Em que:

Teor sup = valor máximo lido no butirómetro

Teor inf = valor mínimo lido no butirómetro

m = massa da amostra (em g)

2.2.1.6 Determinação do perfil de Ácidos Gordos

A determinação de ácidos gordos dividiu-se em duas fases. Primeiramente seguiu-se o procedimento interno PT.LFQ.0414 e seguidamente procedeu-se à deteção dos ácidos gordos pela técnica de cromatografia gasosa (GC). De acordo com o procedimento interno mencionado, adicionou-se ácido clorídrico e etanol às amostras pesadas. Seguidamente, adicionaram-se éter etílico e éter de petróleo à mistura anterior, com posterior agitação no vortex durante seguida de centrifugação. Este processo foi repetido três vezes sendo que após cada centrifugação era retirado o sobrenadante para um balão de fundo redondo. Após as três extrações efetuou-se a evaporação da fase etérea num evaporador rotativo a 40° C. Adicionou-se hidróxido de potássio 2M; agitou-se a mistura no vortex e deixou-se repousar durante 1 hora. Seguidamente adicionou-se ácido acético glacial e agitou-se novamente no vortex. Transferiu-se o sobrenadante para um novo tubo de falcon (de 15 mL), o qual já continha sulfato de sódio anidro. Agitou-se a mistura no vortex, centrifugou-se e retirou-se a fase correspondente ao n-hexano para posteriormente se proceder à análise por GC com injeção *Split* e detetor de ionização de chama (GC SSL-FID).

2.2.1.7. Determinação do teor de sódio

Neste trabalho, foi usada a técnica de absorção atómica para quantificação do teor de sódio segundo o método interno PT.LFQ.0114. A amostra foi digerida com ácido nítrico (67-69%) e peróxido de hidrogénio (30%), num micro-ondas (Ethos one), seguido de quantificação por espectroscopia de absorção atómica (ICE3000).

2.2.1.8. Determinação do pH

O pH foi medido usando um eletrodo combinado de pH ligado a um medidor. O equipamento foi calibrado com três padrões pH = 4,00, pH = 7,00 e pH = 9,00, previamente às medições nas amostras.

2.2.1.9. Determinação do teor de hidratos de carbono (HC)

Para determinação da percentagem de hidratos de carbono utilizou-se a equação 9 para se efetuarem os cálculos:

$$HC (\%) = 100 - (\% \text{ Gordura} + \% \text{ Proteína} + \% \text{ Humidade} + \% \text{ Cinzas}) \quad (9)$$

2.2.1.10. Determinação do teor de do teor de humidade, sólidos totais, gordura e proteína por FoodScan

De acordo com o método interno PT.LFQ.0405, antes de se proceder à determinação do teor de humidade, sólidos totais, gordura e proteína no FoodScan é necessário efetuar o *Check Cell*. De seguida, a amostra é colocada no *sample cup* e posicionada dentro da câmara de sendo analisada por *Near-Infrared Spectroscopy* (NIR). É um método rápido e económico, que permite analisar vários parâmetros em simultâneo.

2.2.1.11. Cor

A cor foi avaliada instrumentalmente usando o CIELAB sistema de coordenadas definido pela *Commission Internationale de l'éclairage* - "CIE L * a * b * Espaço de cores". L * diz respeito ao brilho, variando de 0 (preto) a 100 (Branco); a * varia de -60 (verde) a +60 (vermelho) e b *varia de -60 (azul) a +60 (amarelo) (Rawson et al., 2010). As coordenadas foram medidas na casca e na pasta dos queijos usando um colorímetro portátil. Foram efetuados 14 disparos por cada queijo: 4 na face superior, 4 na face inferior, e após a abertura dos queijos também foram efetuados 6 disparos no interior dos mesmos.

2.2.2. Análise Estatística

Os resultados são apresentados tendo em conta os valores médios e desvios padrão para cada parâmetro sendo que a análise estatística foi realizada através do software *Statistics* da *Statsoft* (versão 7.09). Efetuou-se a análise de variância para determinação de diferenças significativas relativamente ao tipo de queijo (Amarelo da Beira Baixa ou Serra da Estrela), à certificação DOP (DOP ou não-DOP) e interligação entre ambos. Para simplificação da apresentação de resultados usaram-se as seguintes abreviaturas para a existência de certificação DOP: "D" (DOP) e "nD" (não-DOP).

2.3. Resultados e discussão

2.3.1 Análises Físico-Químicas

2.3.1.1 Parâmetros nutricionais

A Tabela 3 ilustra uma comparação entre os valores médios e os desvios padrão dos vários parâmetros químicos analisados dos queijos Amarelo da Beira Baixa DOP (n=17) e não-DOP (n=13), produzidos na zona da Beira Baixa, mais especificamente em Castelo Branco. Esta tabela mencionada anteriormente remete também para uma observação dos valores médios e desvios padrão dos queijos Serra da Estrela DOP (n=16) e não-DOP (n=17). Para facilitar a leitura da Tabela 3 usaram-se as seguintes designações: humidade (H), extrato seco (ES), proteína (P), gordura (G), cinzas (C), valor energético (E), hidratos de carbono (HC), sódio (Na), sal, matéria gorda no extrato seco (MGES), humidade isenta de matéria gorda (HIMG) e pH. Relativamente a diferenças significativas, estas foram estudadas consoante o tipo de queijo (Amarelo ou Serra da Estrela) e também consoante a presença de certificação DOP (D ou nD). Tendo em conta o tipo de queijo, as diferenças significativas foram ao nível dos parâmetros cinzas, hidratos de carbono, sal e pH. Os restantes parâmetros não apresentaram diferenças significativas no que se refere ao tipo de queijo analisado. Relativamente à certificação DOP (com ou sem), os parâmetros que revelaram diferenças mais significativas foram a humidade, proteína, extrato seco, MGES, HIMG, sódio, sal e pH. Vistos estes resultados, a presença de certificação DOP apresenta mais diferenças significativas entre os tipos de queijo do que o facto de estes serem do tipo Amarelo da Beira Baixa ou Serra da Estrela. Por fim, tendo em conta a interação entre o impacto do tipo de queijo com a certificação DOP, constata-se que o teor de proteína, de cinzas, extrato seco, MGES, HIMG, sódio e sal foram os parâmetros que apresentaram diferenças significativas. Os resultados obtidos na Tabela 3 encontram-se evidenciados por projeções de componentes principais na Figura 4. Na Figura 4 é de rápida observação que existem parâmetros com valores mais elevados sob influência de determinados fatores, (presença de certificação DOP e tipo de queijo). Por exemplo, na Figura 4, os valores de proteína e pH são mais elevados nos queijos com certificação DOP, enquanto que parâmetros como o teor de sal e sódio apresentam valores mais elevados em queijos do tipo Amarelo da Beira Baixa. Segundo o caderno de especificações dos queijos da Beira Baixa, no qual se encontra inserido o queijo Amarelo, a humidade relativa ao queijo isento de matéria gorda deve estar entre 54-69 % e a gordura pode variar entre 45-60 % no que se refere ao resíduo seco. Assim, ao consultar a Tabela 4 verifica-se que os queijos Amarelo da Beira Baixa DOP e não-DOP cumprem com ambos os critérios de qualidade mencionados. Segundo a literatura, o queijo Serra da Estrela deve apresentar um teor de humidade de 61% a 69% (isento de matéria gorda) e um teor de gordura entre 45% e 60% (em extrato seco) para possuir o selo de certificação DOP. Consoante os resultados apresentados é de notar que os queijos Serra da Estrela DOP se encontram dentro do intervalo referido à percentagem de MGES, no entanto, a sua percentagem média de HIMG encontra-se muito próxima do valor mínimo

estabelecido para este parâmetro no caderno de especificações do queijo Serra da Estrela. Por outro lado, os queijos Serra da Estrela não-DOP cumprem com ambos os requisitos, evidenciando estes factos com a apresentação da Tabela 5. O facto de o valor médio de HIMG dos queijos Serra da Estrela DOP estar tão próximo do valor mínimo segundo o caderno de especificações, pode dever-se por exemplo ao facto de se ter efetuado as análises vários dias após a recolha dos queijos nas queijarias por impossibilidade de o fazer mais cedo. A Tabela 3 revela que a presença de certificação DOP afeta mais os parâmetros nutricionais do que propriamente o facto de estes serem do tipo Amarelo ou Serra da Estrela. Ou seja, a certificação DOP (DOP) causa mais diferenças significativas nos parâmetros nutricionais do que o fator tipo de queijo (Q).

Tabela 3 - Resultados das análises nutricionais relativas aos queijos Amarelo da Beira Baixa e Serra da Estrela (DOP e não-DOP) e respetiva análise de variância.

| Parâmetro | | Amarelo da Beira Baixa | Serra da Estrela | Origem da Variação | | | |
|--------------|----|------------------------------|------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|------|
| | | | | Q | DOP | Q*DOP | R |
| H (%) | D | 42,92 ± 4,34 ^a | 42,54 ± 3,93 ^a | n.s | 13,9 ^{**} | n.s | 86,1 |
| | nD | 45,48 ± 5,48 ^b | 44,96 ± 4,42 ^b | | | | |
| ES (%) | D | 57,08 ± 4,34 ^b | 57,46 ± 3,93 ^b | n.s | 13,9 ^{**} | n.s | n.s |
| | nD | 54,52 ± 5,48 ^a | 55,04 ± 4,42 ^a | | | | |
| P (%) | D | 20,98 ± 1,11 ^b | 22,59 ± 2,23 ^c | n.s | 40,0 ^{***} | 29,4 ^{***} | 30,6 |
| | nD | 20,00 ± 1,79 ^b | 18,50 ± 1,55 ^a | | | | |
| G (%) | D | 31,23 ± 3,67 | 29,77 ± 5,35 | n.s | n.s | n.s | n.s |
| | nD | 29,52 ± 3,99 | 31,23 ± 2,99 | | | | |
| C (%) | D | 4,06 ± 0,56 ^b | 3,58 ± 0,57 ^a | 8,5 ^{**} | n.s | 15,7 [*] | 75,7 |
| | nD | 3,96 ± 0,36 ^b | 3,95 ± 0,54 ^b | | | | |
| E (kcal) | D | 368,26 ± 35,41 | 364,36 ± 41,73 | n.s | n.s | n.s | n.s |
| | nD | 349,83 ± 41,77 | 360,52 ± 30,12 | | | | |
| HC (%) | D | 0,81 ± 0,74 ^a | 1,53 ± 1,76 ^b | 7,5 [*] | n.s | n.s | 92,5 |
| | nD | 1,04 ± 0,82 ^{ab} | 1,36 ± 1,39 ^{ab} | | | | |
| Na (mg/100g) | D | 935,66 ± 244,57 ^b | 674,89 ± 161,84 ^a | 9,1 ^{**} | 5,1 [*] | 33,7 ^{***} | 52,2 |
| | nD | 873,49 ± 230,76 ^b | 910,48 ± 136,49 ^b | | | | |
| Sal (g/100g) | D | 2,34 ± 0,61 ^b | 1,69 ± 0,4 ^a | 9,1 ^{**} | 5,1 [*] | 33,7 ^{***} | 52,2 |
| | nD | 2,18 ± 0,58 ^b | 2,28 ± 0,34 ^b | | | | |
| MGES (%) | D | 54,58 ± 3,04 ^b | 51,54 ± 6,69 ^a | n.s | 9,8 ^{**} | 32,1 ^{***} | 58,2 |
| | nD | 54,00 ± 2,42 ^b | 56,71 ± 2,56 ^c | | | | |
| HIMG (%) | D | 62,27 ± 3,63 ^a | 60,55 ± 3,18 ^a | n.s | 29,7 ^{***} | n.s | 70,3 |
| | nD | 64,30 ± 4,63 ^b | 65,25 ± 4,21 ^b | | | | |
| pH | D | 5,44 ± 0,25 ^a | 5,58 ± 0,23 ^c | 3,7 [*] | 48,4 ^{***} | n.s | 47,9 |
| | nD | 5,16 ± 0,28 ^a | 5,22 ± 0,22 ^a | | | | |

D – Queijos DOP; nD – Queijos não-DOP; Q – Tipo de queijo; DOP – Certificação DOP, R – Resíduo; H – Humidade; ES – Extrato seco; P- Proteína; G- Gordura; C – Cinzas; E- Valor Energético; HC- Hidratos de

Carbono; Na – Sódio; MGES – Matéria Gorda no Extrato Seco; HIMG – Humidade Isenta Matéria Gorda.
 n.s (diferenças não significativas): $p > 0,05$; *: $0,05 < p < 0,01$; **: $0,01 < p < 0,001$; ***: $p < 0,001$

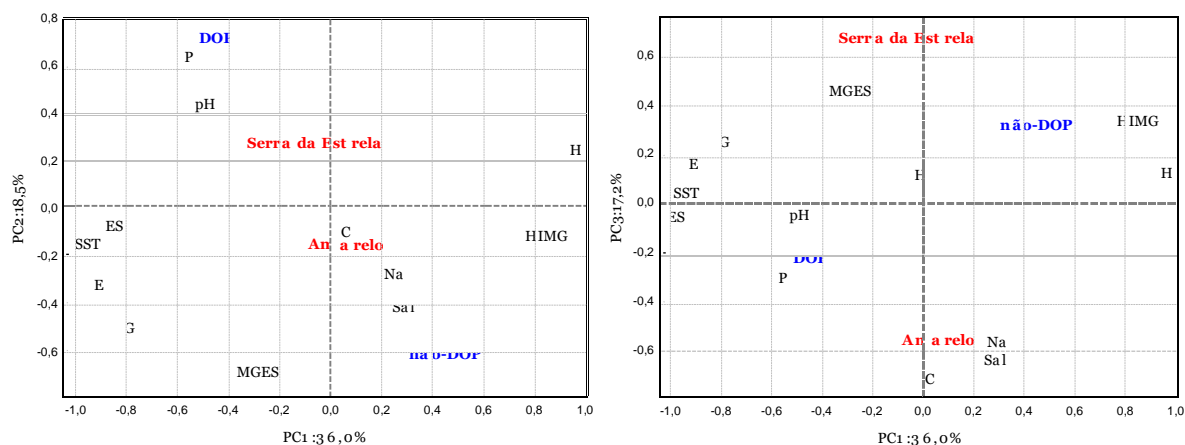


Figura 4 – Projeção dos três componentes principais (PC1 vs PC2 e PC1 vs PC3) dos parâmetros analisados para os queijos Amarelo e Serra da Estrela, DOP e não-DOP.

Tabela 4 – Comparação entre as percentagens de MGES e HIMG estabelecidas no Caderno de Especificações dos queijos da Beira Baixa e as percentagens médias obtidas na análise dos queijos Amarelo DOP e não-DOP.

| Parâmetro | Caderno Especificações Queijos da Beira Baixa | Queijos Amarelo DOP | Queijos Amarelo não-DOP |
|-----------|---|---------------------|-------------------------|
| MGES | 45 – 60 % | 54,58 % | 54,00 % |
| HIMG | 54 – 69 % | 62,27 % | 64,30 % |

Tabela 5 – Comparação entre as percentagens de MGES e HIMG estabelecidas no Caderno de especificações do queijo Serra da Estrela e as percentagens médias obtidas na análise dos queijos Serra da Estrela DOP e não-DOP.

| Parâmetro | Caderno Especificações Queijo Serra da Estrela | Queijos Serra da Estrela DOP | Queijos Serra da Estrela não-DOP |
|-----------|--|------------------------------|----------------------------------|
| MGES | 45-60 % | 51,54 % | 56,71 % |
| HIMG | 61-69 % | 60,55 % | 65,25 % |

2.3.1.2. Correlação entre os métodos convencionais realizados e as análises por *Foodscan*

Neste ponto foram estabelecidas comparações entre os resultados das percentagens de humidade, proteína e de gordura, obtidos pelos métodos convencionais (gravimetria, método de Kjeldahl e técnica de Van Gulik, respetivamente) e os resultados obtidos nestes parâmetros por análises com o auxílio do equipamento de *foodscan*. O intuito desta comparação ou correlação foi entender o potencial das análises rápidas (*Foodscan*) na caracterização de queijos e perceber se estas apresentam resultados semelhantes. Na Tabela 6 estão representados os valores dos parâmetros analisados no equipamento de *Foodscan* via NIR, para ambos os tipos de queijos, com e sem certificação. Neste equipamento de análise rápida, os queijos foram caracterizados através apenas de quatro parâmetros: humidade, gordura, proteína e sólidos totais. Pela análise da Tabela 7 podemos observar que os resultados, relativos à humidade de ambos os métodos, apresentam um fator R^2 inferior a 0,99. Relativamente aos resultados obtidos para o teor de proteína o R^2 ainda é mais baixo do que o do teor de humidade, pelo que se verifica que os resultados da percentagem de proteína ainda são mais díspares, comparando os dois métodos. No que se refere à percentagem de gordura, podemos verificar que os valores obtidos por gravimetria são bastante mais próximos dos valores de gordura analisados por *Foodscan*, no entanto, será necessário efetuar otimizações visto que o fator R^2 é apenas de 0,94, estando ligeiramente abaixo do valor mais aceitável de 0,99. Na Tabela 7 estão representadas as equações de reta e os valores de R^2 , ambos obtidos da correlação entre os teores de humidade, proteína e gordura, pelos métodos convencionais e por *Foodscan*.

Tabela 6 - Resultados nutricionais (Humidade, Proteína, Gordura e Sólidos Solúveis Totais), obtidos por *Foodscan*, dos queijos Amarelo da Beira Baixa e dos queijos Serra da Estrela (DOP e não-DOP).

| Parâmetro | | Amarelo da Beira Baixa | Serra da Estrela |
|-----------|----|------------------------|------------------|
| H (%) | D | 42,33±4,32 | 42,30±3,73 |
| | nD | 45,50±4,72 | 44,30±4,22 |
| P (%) | D | 20,44±1,78 | 23,41±2,27 |
| | nD | 19,31±2,12 | 18,43±1,88 |
| G (%) | D | 30,21±3,64 | 28,53±5,51 |
| | nD | 27,78±3,79 | 29,76±3,15 |
| SST (%) | D | 57,67±4,32 | 57,70±3,73 |
| | nD | 54,50±4,72 | 55,70±4,22 |

D – Queijos DOP; nD – Queijos não-DOP; H-Humidade; P-proteína; G- Gordura; SST – Sólidos Solúveis Totais.

Tabela 7 – Equação da reta e coeficiente de R^2 das correlações entre os teores de humidade, proteína e gordura, para os queijos Amarelo da Beira Baixa e Serra da Estrela (DOP e não-DOP).

| <i>Parâmetro</i> | <i>Equação da reta</i> | <i>R²</i> |
|------------------|------------------------|----------------------|
| Humidade | $Y=0,89x+4,63$ | 0,88 |
| Proteína | $Y=1,11x-2,35$ | 0,84 |
| Gordura | $Y=0,99x-0,92$ | 0,94 |

2.3.1.3. Perfil dos ácidos gordos

Na Tabela 8 estão representados os valores médios e desvios padrão, em percentagem, dos ácidos gordos presentes nos queijos Amarelo da Beira Baixa DOP e não-DOP e nos queijos Serra da Estrela DOP e não-DOP, analisados por cromatografia gasosa. Nos queijos Amarelo há sete ácidos gordos cujas percentagens são significativamente superiores relativamente às percentagens dos ácidos gordos restantes, tanto nos queijos DOP como nos não-DOP. Estes são os ácidos oleico (C18:1), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), mirístico (C14:0), cáprico (C10:0), e por fim os ácidos láurico (C12:0) e linoleico (C18:2). A Tabela 8 mostra também os valores médios em percentagem relativamente ao perfil dos ácidos gordos presentes nos queijos Serra da Estrela DOP e nos não-DOP. No caso dos queijos Serra da Estrela detentores de certificação, o ácido gordo que apresentou maior concentração, em percentagem, foi o ácido oleico (C18:1) seguido do ácido palmítico (C16:0), enquanto que nos queijos sem certificação sucede o inverso, o ácido palmítico encontra-se presente em maior percentagem relativamente ao ácido oleico. É igualmente representada na Tabela 8 a percentagem de ácidos gordos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) e polinsaturados (PUFA), comparando as respetivas percentagens nos queijos Amarelo da Beira Baixa DOP e nos queijos não-DOP analisados neste trabalho. Nesta tabela pode-se também constatar que as percentagens relativas aos valores médios dos ácidos gordos saturados e insaturados é mais elevada nos queijos Amarelo da Beira baixa DOP, o que era de prever visto que estes apresentam maior percentagem de gordura tal como se pôde observar na Tabela 3. Na Tabela 8 pode-se constatar que os valores mais elevados da origem de variação encontram-se no resíduo, o que significa que o perfil dos ácidos gordos observado varia segundo outros fatores que não se tiveram em conta neste estudo, e não segundo a presença ou ausência da certificação DOP nem segundo o tipo de queijo. Ainda assim, alguns ácidos gordos apresentam diferenças os fatores analisados, sendo estas mais elevadas nos ácidos C8:0, C15:0, C17:0, C18:2, C18:3 e C20:3 e na percentagem média dos ácidos gordos polinsaturados (PUFA). A apresentação dos resultados também é feita na Figura 5 que contempla as projeções dos três componentes principais (PC1, PC2 e PC3) tal como no ponto 2.3.1.1. Na Figura 5 é perceptível que determinados ácidos gordos apresentam valores mais elevados consoante os fatores analisados, por exemplo, focando nos ácidos gordos presentes a maior quantidade, os ácidos C18:0 e C18:1 são mais elevados nos queijos DOP enquanto que os ácidos C10:0, C12:0, C14:0, C16:0 e C18:2 apresentam maior percentagem nos queijos não-DOP.

Tabela 8 – Perfil dos ácidos gordos relativo aos queijos Amarelo da Beira Baixa e Serra da Estrela (DOP e não-DOP) e respetiva análise de variância.

| AG (%) | | Amarelo da Beira Baixa | Serra da Estrela | Origem da Variação | | | |
|--------|----|--------------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|------|
| | | | | Q | DOP | Q*DOP | R |
| C4:0 | D | 0,45±0,14 ^b | 0,38±0,13 ^a | n.s | n.s | n.s | n.s |
| | nD | 0,44±0,14 ^{ab} | 0,44±0,33 ^{ab} | | | | |
| C6:0 | D | 0,66±0,15 ^a | 0,61±0,19 ^a | n.s | n.s | n.s | n.s |
| | nD | 0,66±0,18 ^a | 0,67±0,15 ^a | | | | |
| C8:0 | D | 1,08±0,14 ^b | 1,09±0,24 ^b | 9,4 ^{***} | 18,1 ^{***} | 11,2 ^{***} | 61,3 |
| | nD | 1,01±0,35 ^b | 0,55±0,57 ^a | | | | |
| C10:0 | D | 4,55±0,39 ^a | 4,8±0,64 ^a | n.s | n.s | n.s | n.s |
| | nD | 4,63±0,64 ^a | 4,54±0,49 ^a | | | | |
| C12:0 | D | 3,26±0,28 ^a | 3,55±0,33 ^b | 9,2 ^{**} | 5,6 [*] | n.s | 85,2 |
| | nD | 3,24±0,45 ^a | 3,30±0,28 ^a | | | | |
| C14:0 | D | 9,28±0,78 ^a | 9,99±0,57 ^b | 17,0 ^{***} | 4,4 [*] | n.s | 78,6 |
| | nD | 9,24±0,82 ^a | 9,49±0,48 ^a | | | | |
| C15:0 | D | 0,89±0,08 ^a | 1,05±0,08 ^b | 20,0 ^{***} | 22,6 ^{***} | 21,7 ^{***} | 35,8 |
| | nD | 0,89±0,05 ^a | 0,88±0,06 ^a | | | | |
| C16:0 | D | 25,38±2,27 ^b | 23,95±1,02 ^a | n.s | 24,6 ^{***} | 10,0 ^{***} | 65,4 |
| | nD | 26,01±2,53 ^{bc} | 27,00±1,88 ^c | | | | |
| C16:1 | D | 1,00±0,14 ^{ab} | 1,04±0,13 ^b | n.s | n.s | n.s | n.s |
| | nD | 1,01±0,08 ^{ab} | 0,98±0,08 ^a | | | | |
| C17:0 | D | 0,28±0,02 ^a | 0,33±0,03 ^b | 14,3 ^{***} | 24,5 ^{***} | 17,6 ^{***} | 43,6 |
| | nD | 0,27±0,04 ^a | 0,27±0,02 ^a | | | | |
| C18:0 | D | 13,21±1,13 ^{ab} | 13,64±1,11 ^b | n.s | 5,2 [*] | n.s | 94,8 |
| | nD | 12,92±1,27 ^a | 13,07±1,01 ^a | | | | |
| C18:1 | D | 27,23±1,33 ^c | 26,14±1,54 ^{ab} | 16,1 ^{***} | n.s | n.s | 83,9 |
| | nD | 26,82±1,41 ^{bc} | 26,08±1,26 ^a | | | | |
| C18:2 | D | 3,08±0,29 ^b | 2,72±0,27 ^a | 11,3 ^{***} | 38,9 ^{***} | 5,8 ^{**} | 44,1 |
| | nD | 3,31±0,28 ^c | 3,25±0,28 ^c | | | | |
| C18:3 | D | 0,78±0,18 ^b | 1,08±0,14 ^c | 5,7 ^{**} | 22,3 ^{***} | 29,4 ^{***} | 42,5 |
| | nD | 0,8±0,21 ^b | 0,69±0,16 ^a | | | | |
| C20:0 | D | 0,33±0,05 ^b | 0,30±0,06 ^a | n.s | n.s | 7,3 [*] | 92,7 |
| | nD | 0,3±0,05 ^{ab} | 0,32±0,04 ^{ab} | | | | |
| C20:3 | D | 0,18±0,04 ^b | 0,15±0,02 ^a | 8,7 ^{**} | 16,4 ^{***} | 8,4 ^{**} | 66,5 |
| | nD | 0,19±0,05 ^b | 0,19±0,03 ^b | | | | |
| C22:0 | D | 0,18±0,04 ^b | 0,15±0,04 ^a | n.s | n.s | n.s | n.s |
| | nD | 0,15±0,05 ^a | 0,16±0,04 ^a | | | | |
| C22:2 | D | 0,19±0,18 ^b | 0,10±0,10 ^a | n.s | n.s | 12,6 ^{**} | 87,4 |
| | nD | 0,17±0,05 ^{ab} | 0,23±0,19 ^b | | | | |
| C22:5 | D | 0,13±0,05 ^b | 0,18±0,02 ^c | n.s | 30,9 ^{***} | 17,9 ^{***} | 51,2 |
| | nD | 0,11±0,06 ^b | 0,08±0,06 ^a | | | | |
| SFA | D | 18,61±1,72 ^a | 17,82±1,32 ^{ab} | n.s | n.s | n.s | n.s |
| | nD | 17,66±1,95 ^{ab} | 19,97±1,62 ^b | | | | |
| MUFA | D | 8,82±0,46 ^c | 8,09±0,5 ^{ab} | 16,2 ^{***} | n.s | n.s | 83,8 |
| | nD | 8,22±0,44 ^{bc} | 8,45±0,42 ^a | | | | |
| PUFA | D | 1,41±0,27 ^b | 1,30±0,29 ^a | 8,1 ^{**} | 21,9 ^{***} | n.s | 70,0 |
| | nD | 1,38±0,26 ^c | 1,43±0,25 ^{bc} | | | | |

D – Queijos DOP; nD – Queijos não-DOP; Q – Tipo de queijo; DOP – Certificação DOP, R – Resíduo; n.s (diferenças não significativas): p > 0,05; *: 0,05 < p < 0,01; **: 0,01 < p < 0,001; *** : p < 0,001

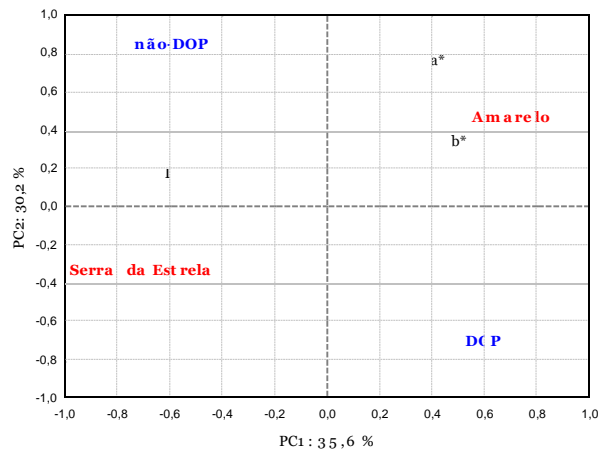


Figura 6 – Projeção dos dois componentes principais (PC1 vs PC2) das coordenadas de cor para os queijos Amarelo e Serra da Estrela, DOP e não-DOP.

2.4. Conclusões e perspectivas futuras

Relativamente aos resultados das análises nutricionais para os queijos Amarelo da Beira Baixa DOP e não-DOP, as diferenças entre ambos revelaram ser pouco acentuadas. Os resultados apresentados neste estudo denotam um bom processo de produção dos queijos “Amarelo da Beira Baixa”, nesta região, e que, por esta razão, mais produtores poderiam ser agregados à certificação DOP, para serem reconhecidos como produtores de excelência, apesar de já o serem. Quanto às análises nutricionais dos queijos Serra da Estrela DOP e não-DOP, verificou-se que os queijos não-DOP cumpriam com os requisitos de qualidade para possuírem o selo de Denominação de Origem Protegida, pois preservaram as características físico-químicas que constam do caderno de especificações do queijo Serra da Estrela. Futuramente seria interessante, ao partir da mesma amostra, efetuarem-se análises em alturas diferentes de modo a poder verificar o impacto do tempo na alteração dos vários parâmetros físico-químicos. Ao consultar a análise de variância na Tabela 3 é interessante realçar que existem diferenças significativas mais acentuadas entre queijos DOP e não-DOP do que entre queijos Amarelo e Serra da Estrela. Após serem efetuadas análises por Foodscan para caracterização de parâmetros cujos resultados também se obtiveram por métodos/técnicas convencionais, estabeleceu-se uma correlação entre ambos. Constatou-se que apesar de os resultados serem próximos entre si, ao traçar uma reta de calibração, verificou-se que o R^2 era sempre inferior a 0,99 pelo que este método/equipamento ainda necessita de algumas otimizações para que o modelo seja fidedigno. Este equipamento demonstra ter bastante utilidade pois requer muito menos tempo para efetuar as análises, sem gasto de reagentes, nem de outros equipamentos/materiais. Na Tabela 8, relativamente ao perfil de ácidos gordos, tanto o tipo de queijo (Q) como a certificação DOP (DOP) teve impacto semelhante nas diferenças significativas. O ácido gordo que se apresentava em maior concentração foi o ácido oleico (C18:1) à exceção dos queijos Serra da Estrela não-DOP, em que se verificou que o ácido gordo em maior concentração foi o ácido palmítico (C16:0).

Capítulo III

3. Laboração e análise de queijos Amarelo da Beira Baixa não-DOP com pólen de abelha incorporado

3.1. Revisão bibliográfica

3.1.1. Inovação alimentar

Segundo Guterres (2013), “É através da introdução de novos componentes e criação de novos produtos, das novas formas de apresentação do produto e de organização nos serviços, tais como novos conceitos de marketing que se consegue atrasar o decréscimo da produção, evitando a entrada na fase final da existência dos produtos. A inovação representa a sobrevivência da empresa e quanto mais competitiva for a economia e global o mercado, maior é a necessidade desta de conseguir incluir inovações nos respetivos processos produtivos”. Com a aquisição gradual de conhecimentos sobre química e microbiologia do leite e queijo, tornou-se possível direcionar as mudanças envolvidas no fabrico de queijos de maneira mais controlada (Fox et al., 2017).

Assim, neste trabalho surgiu a ideia de confeccionar queijos com as características do queijo Amarelo da Beira Baixa, adicionando pólen de abelha e por sua vez proceder à sua caracterização físico-química.

3.1.2. Fabrico de queijo

As principais etapas de fabrico de queijo são a coagulação e o dessoramento, a moldagem/prensagem, a salga e a maturação/cura (Fox et al., 2000; Fernandes et al., 2001; Ventura, 2003; Walstra et al., 2006):

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 atividade 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 (Moreira, 2011). 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). Quando a coalhada atinge o ponto, efetua-se o seu corte, obtendo-se pequenos grãos. Após o corte, a mistura é agitada suavemente e o soro é escoado, ocorrendo o dessoramento (Fernandes et al., 2001);

Moldagem ou Prensagem -

Após o dessoramento, o coalho pode ser tratado de diferentes formas, podendo ser transferido diretamente para os moldes (queijo granular) ou, previamente, prensado e cortados (queijo prato) (Fernandes et al., 2001). A prensagem efetua-se com o objetivo de expulsar o restante soro, melhorar a textura e dar forma ao queijo (Moreira, 2011);

Salga -

A adição de sal, geralmente 1 a 4 %, para além de funcionar como condimento remove a humidade do queijo através do efeito osmótico (Moreira, 2011);

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). Nesta etapa, o queijo é sujeito a um conjunto de transformações com origem em processos microbiológicos, físicos e

bioquímicos. Estas transformações afetam a lactose, a proteína e a gordura, permitindo o desenvolvimento do sabor e da textura (Moreira, 2011).

3.1.3. Queijo com pólen de abelha incorporado

Neste projeto os queijos serão produzidos em formato merendeira, não sendo este o formato normal do queijo Amarelo da Beira Baixa. As restantes propriedades que são características deste queijo (tipo de leite e coalho, tempo de coagulação, salga) foram preservadas o máximo possível. Porém, este tipo de preservação de características originais só é possível até um certo ponto quando são adicionados ingredientes (neste caso o pólen de abelha) que não constam no caderno de especificações deste queijo, alterando assim a “receita” e o modo de produção normal deste alimento.

3.1.4. Pólen

Embora o termo pólen tenha sido estabelecido no século 17 a partir da palavra latina que define pó fino (farinha), este material vegetal é conhecido como “alimento” há séculos. Para todos os insetos Apidae, e para alguns que não pertencem a este género, o pólen é a principal fonte de alimento durante desenvolvimento. Nesse sentido, as abelhas operárias utilizam o pólen para a produção de geleia real (alimento básico para a rainha e larva) ou diretamente como alimento devido à grande quantidade de proteínas e lipídios presente nele (Kostić et al., 2020).

Produtores e consumidores, cada vez mais, procuram produtos onde os antioxidantes sintéticos são substituídos por naturais, derivados de plantas. Nesse sentido, destaca-se o pólen de abelha (Anjos et al., 2019). A composição química deste alimento, depende fortemente da planta e origem geográfica, juntamente com outros fatores, tais como, condições climáticas, tipo de solo, raça e atividades das abelhas (Komosinska-Vassev et al., 2015).

3.1.4.1. Composição Química

A composição química deste alimento, depende fortemente da planta e origem geográfica, juntamente com outros fatores mencionados no ponto 3.1.4. (Komosinska-Vassev et al., 2015). Técnicas analíticas como cromatografia e espectrometria permitem a identificação de aproximadamente 200 compostos químicos no pólen de abelha proveniente de várias espécies de plantas. Os principais componentes incluem proteínas (5–60%), aminoácidos essenciais, açúcares redutores (13–55%), lipídios (4–7%), ácidos nucleicos (especialmente RNA) e fibra (0,3-20%). Os

componentes menores são minerais como Ca, Mg, Fe, Zn, Cu, com uma alta razão K / Na, vitaminas: pró-vitamina A (β -caroteno), vitamina E (tocoferol), niacina, tiamina, biotina e ácido fólico, enzimas ou coenzimas. Substâncias bioativas são compostos importantes: estes incluem ácidos gordos insaturados / saturados (1–10%; linoleico, γ -linoleico e arcaico), fosfolipídios (1,5%), fitoesteróis, β -sitosterol, P-sitosterol (1,1%) e terpenos. Dada a sua composição, o pólen de abelha é reconhecido como um alimento perfeitamente completo (Anjos et al., 2019; Denisow, B., et al. 2016) sendo os principais componentes bioativos os polifenóis, sobretudo os flavonóides (El Ghouizi et al., 2020).

3.1.4.2. Efeitos benéficos

A produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) pode danificar biomoléculas celulares, como ácidos nucleicos, proteínas, carboidratos e lípidos, o que resulta em danos celulares e teciduais por meio da inflamação. Os radicais livres e o estresse oxidativo contribuem para o desenvolvimento de diferentes doenças e condições de saúde como cancro, doenças autoimunes, envelhecimento, cataratas, diabetes mellitus, entre outras. A ingestão de antioxidantes pode reduzir os efeitos nocivos das ROS e dos radicais livres na resposta imunológica, o que resulta em melhor desempenho do sistema imunológico. Fitoquímicos dietéticos, como compostos polifenólicos e flavonóides com efeitos antioxidantes, melhoram a resposta imunológica (Jannesar et al., 2017). O pólen pode ser considerado um superalimento pela diversidade de efeitos benéficos para a saúde daqueles que o ingerem devida à sua atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, entre outras. Dos efeitos destacam-se a prevenção de problemas da próstata e o pólen atua também no sistema digestivo regulando a flora intestinal. O ferro e as vitaminas presentes neste alimento podem contribuir para o aumento da taxa de hemoglobina presente nos eritrócitos e evidências sugerem o efeito benéfico do pólen em doentes com problemas cardiovasculares devido à sua ação na redução dos níveis de triglicéridos e colesterol (Anjos et al., 2017). Portanto, os extratos de pólen de abelha são recomendados em condições inflamatórias agudas e crônicas, degenerativas iniciais e doenças hepáticas, bem como em doenças tóxicas e dano pós-traumático a este órgão (fígado) (Denisow et al., 2016). Os produtos à base de pólen podem ser encontrados no mercado na forma de grânulos, cápsulas, etc. A ingestão recomendada para um adulto deve variar entre 20 a 40 g diárias (Kostić et al., 2020) porém em pediatria, as evidências disponíveis para determinar a dosagem de pólen de abelha são insuficientes (Jannesar et al., 2017).

3.1.4.3. Atividade antimicrobiana

Verificaram-se efeitos antimicrobianos de pólenes de abelha portugueses, por exemplo contra *Staphylococcus aureus*. A atividade antimicrobiana do pólen depende da concentração e o efeito antibacteriano do pólen está provavelmente associado a propriedades da glicose oxidase, uma enzima produzida pelas abelhas. É adicionado ao pólen quando os grânulos de pólen são formados. Também foi mostrado que a atividade microbiológica está relacionada à presença de ácidos fenólicos e flavonóides. O mecanismo de ação dos flavonóides e fenóis contra células bacterianas e fúngicas é a degradação da membrana do citoplasma, o que leva à perda de íons de potássio e início da autólise celular (Denisow et al., 2016).

3.2. Materiais e métodos

3.2.1. Análise polínica

A preparação dos extratos de pólen para observação ao microscópio foi realizada, pelo método de Acetólise, de modo a ser verificada a origem botânica das amostras. O seguinte procedimento foi desenvolvido na Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco (ESA-IPCB). Os passos realizados nos pontos mencionados foram efetuados em simultâneo e em duplicado para o tipo de pólen A e para o tipo de pólen B.



Figura 7 – Amostras de pólen utilizadas nos ensaios

A) Acetólise

Foi seguido o protocolo de Acetólise para Pólen da ESA-IPCB que consistiu em realizar diferentes passos que se encontram descritos de seguida.

Foram pesados 4 grãos (*pellets*) de pólen num copo de precipitação. A mistura foi então vertida para um tubo de 16 mL de fundo cónico, foram adicionados 5 mL de água destilada e centrifugou-se 5 min a 4000 rpm. Seguidamente decantou-se com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, tendo o cuidado de perder o mínimo de sedimento possível. Posteriormente adicionou-se ácido acético glacial até preencher os 5 mL dos tubos e levou-se a agitar no vortex. Voltou-se a centrifugar e decantou-se novamente com uma pipeta de Pasteur.

Procedeu-se a preparação da mistura de Acetólise, medindo com uma proveta 45 mL de anidrido acético e adicionou-se lentamente 5 mL de ácido sulfúrico para um balão volumétrico de 50 mL e de seguida agitou-se bem com o auxílio de uma vareta de vidro. Adicionou-se então um pouco de solução de Acetólise a cada tubo até preencher os 5 mL e agitou-se. Seguidamente colocou-se os tubos em banho maria a 100° C durante 3 minutos e depois centrifugou-se novamente e decantou-se com uma

pipeta de Pasteur. Fez-se uma mistura a 50% de glicerol medindo com uma proveta 25 mL de glicerol para um balão volumétrico de 50 mL, perfazendo o volume com 25 mL de água destilada, homogeneizando bem. Adicionou-se esta solução de glicerol aos tubos até preencher os 5 mL, agitou-se, centrifugou-se e decantou-se com uma pipeta de Pasteur, deixando o menos possível de líquido sem, no entanto, perder o pólen e por fim colocou-se na estufa até secar.

B) Preparação das lâminas

Transferiu-se o sedimento do tubo de centrifuga para uma lâmina e colocou-se, com bastante cuidado uma lamela em cima do pipetado com um pouco de gelatina glicerada e também se utilizou parafina. Por fim, as lâminas foram identificadas para cada amostra.

Para efetuar a identificação da origem dos vários grãos de pólen presentes nas amostras foi utilizado um microscópio ótico na ampliação 10×100 com utilização de óleo de emersão.

3.2.2. Fabrico dos queijos

A laboração dos queijos teve lugar nas unidades piloto de lácteos do CATAA, em Castelo Branco. Foram produzidos no total 90 queijos, 18 queijos controlo, para os quais foi seguida a receita de fabrico do queijo Amarelo da Beira Baixa e aos quais não foi adicionado pólen. Produziram-se então 72 queijos com pólen de abelha incorporado sendo que foram usados os dois tipos de pólen A e B descritos no ponto anterior, em duas concentrações diferentes para ambos: 2 g de pólen/L de leite e 4 g de pólen/ L de leite. Assim, obtiveram-se 36 queijos com pólen A (18 queijos com concentração de 2 g/L e 18 com 4 g/L) e outros 36 queijos com pólen B adicionado (18 queijos com concentração de 2 g/L e 18 com 4 g/L)

Neste projeto usaram-se 27 L de leite de ovelha que foi aquecido até atingir a temperatura de 24 °C e ao qual foi adicionado 9 mL de coalho de origem animal e posteriormente aquecido até atingir 30 °C (Figura 8 A). Quando a coalhada atingiu o ponto foi efetuado o seu corte (Figura 8 B).

Posteriormente, procedeu-se ao dessoramento com o auxílio de um pano que permitiu remover a coalhada e escoar o soro do leite. Após esta etapa foi então adicionado o pólen de modo a respeitar as diferentes modalidades de ensaio (Figura 8 C e D).

O pólen foi envolvido na coalhada após o dessoramento para evitar perdas de pólen. A coalhada com o pólen incorporado foi transferida para moldes cilíndricos de formato merendeira nos quais se efetuou a prensagem (Figura 8 E).

O sal foi adicionado em ambas as faces dos queijos (Figura 8 F).

Terminado o tempo de salga os queijos foram colocados em carros de maturação de aço inoxidável que possuíam várias prateleiras onde se colocou os queijos para maturar. Os queijos foram para uma câmara de maturação com humidade e temperatura controladas (Figura 8 G).

Dos 90 queijos produzidos, apenas 60 foram curados. Desses 60 queijos, 30 foram analisados após um mês de cura e os restantes 30 foram analisados após 45 dias de cura.

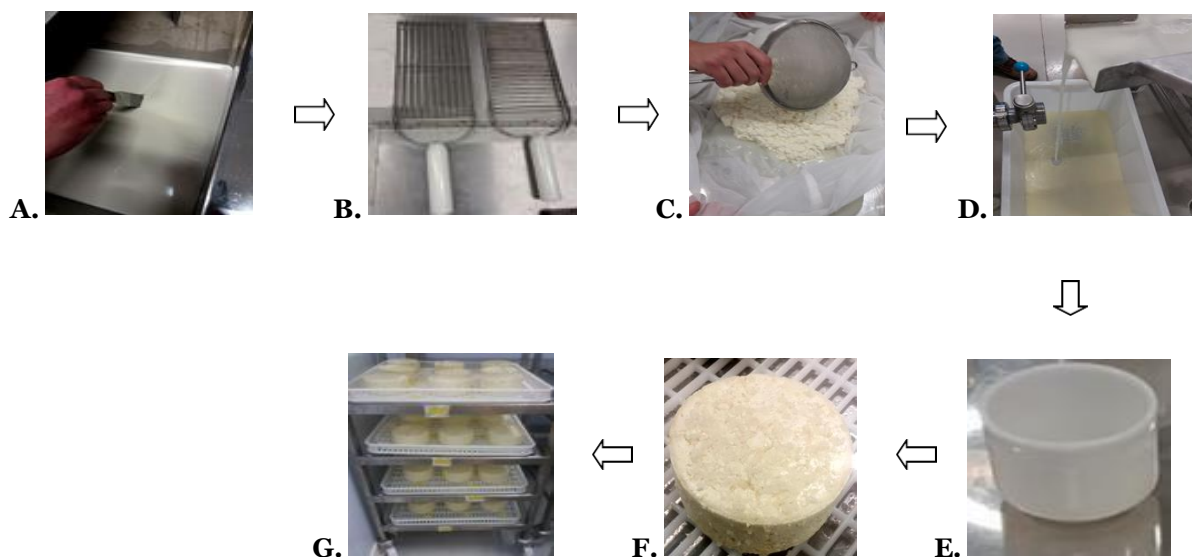


Figura 8 – Processo de fabrico dos queijos

3.2.3. Análises físico-químicas

As análises físico-químicas tiveram lugar no CATAA, em Castelo Branco. Para as análises físico-químicas foram analisados 10 queijos por 3 vezes (30 queijos), de uma produção de 90 queijos. As análises físico-químicas foram as seguintes: gordura, perfil de ácidos gordos, cinzas, proteína, humidade, extrato seco, sódio e teor de sal, pH, acidez, hidratos de carbono, sólidos solúveis totais, cor e textura.

3.2.3.1. Parâmetros Químicos

Os parâmetros químicos e os respetivos procedimentos experimentais foram os mesmos dos do capítulo II, no entanto, no presente capítulo foi também realizada a análise à acidez. Para efetuar esta análise, a amostra foi dissolvida no Turax durante 5 minutos. Seguidamente procedeu-se à filtração da mesma para um copo com o auxílio de um papel de filtro. Por fim efetuou-se a titulação do filtrado.

3.2.3.2. Parâmetros Físicos

Cor

As medições da cor foram efetuadas usando os mesmos métodos e equipamentos do procedimento descrito no capítulo II. No entanto, neste ponto foram efetuados apenas 12 disparos: 4 na face superior, 4 na face inferior e 4 no interior dos queijos. Foram também registadas fotografias de um queijo de controlo (C), de um queijo com pólen A de 2 g/L (A2), pólen A 4 g/L (A4), pólen B 2 g/L (B2) e um queijo com pólen B com 4 g/L (B4). As fotografias foram tiradas no dia seguinte à laboração dos queijos e após 30 e 45 dias de cura.

Textura

Foi realizado o teste de perfil de textura (TPA) que é caracterizado por duas penetrações na amostra com uma pausa entre elas (Machado, 2003). Deste teste obtêm-se parâmetros importantes sobre as propriedades texturais dos alimentos, nomeadamente, a dureza, a coesividade, a elasticidade, a mastigabilidade e a firmeza (tabela 17 do ponto 3.2.2) (Machado, 2003).

3.2.5. Análise estatística

A análise estatística foi realizada através do software *Statistics* da *Statsoft* (versão 7.09). Os resultados são apresentados tendo em conta os valores médios e desvios padrão para cada parâmetro analisado. Efetuou-se a análise de variância para determinação de diferenças significativas relativamente ao tipo de pólen adicionado, consoante a concentração do mesmo e ao longo do período de cura. O tipo de pólen (P) divide-se em C (queijo controlo sem pólen incorporado), A (pólen tipo A) e B (Pólen tipo B). Por sua vez a concentração de pólen usada (Cc) foi de 0 g/L de leite no caso dos queijos controlo e de 2g/L e 4 g/L de leite para os tipos de pólen A e B. O tempo de cura (T) foi de 1, 30 e 45 dias, tendo sido analisados 10 queijos em cada fase. Recorreu-se ao auxílio de projeções de componentes principais para expressar os resultados de modo mais perceptível, usando as abreviaturas anteriores.

3.3. Resultados e discussão

3.3.1. Análise polínica

A Tabela 10 refere-se à origem botânica das amostras de pólen A e B na qual se verifica que, por um lado, na amostra de pólen A, os grãos de pólen são maioritariamente originais de plantas dos tipos *Cistus*, *Echium* e *Rubus* enquanto que na amostra de pólen B se observa que a origem dos grãos de pólen são, na sua maioria, plantas dos tipos *Rubus*, *Echium* e *Jaseone*.

Tabela 10 – Origem botânica da amostra de pólen A e B.

| Origem botânica | Amostra A (%) | Amostra B (%) |
|----------------------------|----------------------|----------------------|
| <i>Echium</i> | 32,1 | 23,1 |
| <i>Halimium</i> | 2,0 | 0,7 |
| Indeterminado | 3,7 | 3,9 |
| <i>Jaseone</i> | 1,0 | 10,7 |
| <i>Olea</i> | 0 | 4,8 |
| <i>Oenanthe</i> | 0 | 1,9 |
| <i>T. Cistus</i> | 39,2 | 3,5 |
| <i>T. Crataegus</i> | 0,4 | 0 |
| <i>T. Crepis</i> | 0 | 2,1 |
| <i>T. Cytisus</i> | 0,6 | 2,6 |
| <i>T. Quercus</i> | 0 | 4,3 |
| <i>T. Raphanus</i> | 0,2 | 0,4 |
| <i>T. Reseda</i> | 0,1 | 0 |
| <i>T. Rosaceae</i> | 0,1 | 0,2 |
| <i>T. Rubus</i> | 18,1 | 30,2 |
| <i>T. Scrophulariaceae</i> | 0,1 | 0,4 |
| <i>T. sedum</i> | 1,2 | 0,2 |
| <i>T. Sesamoides</i> | 0 | 4,0 |
| <i>Trifolium</i> | 1,2 | 6,9 |
| TOTAL | 100,0 | 100,0 |

3.3.2. Análises Físico-Químicas

3.3.2.1 Parâmetros químicos

Foram fabricados 90 queijos sendo que 30 dos mesmos contaram com caracterização de vários parâmetros químicos que se encontram apresentados na Tabela 11. Esta tabela mencionada representa os valores médios e desvios-padrão referentes a cada parâmetro químico analisado nos queijos, após 1, 30 e 45 dias de maturação e tendo em conta o tipo de pólen e concentração de pólen de abelha adicionado. Estes parâmetros seguem as mesmas designações que os parâmetros descritos no capítulo II, sendo que neste capítulo também foi analisada a acidez (Ac). Após cada período de cura (1, 30 e 45 dias) analisaram-se 10 queijos, perfazendo assim o total de 30 queijos submetidos a análises físico-químicas. Foi realizada análise estatística para verificar se existem diferenças significativas entre os parâmetros e estas diferenças foram analisadas consoante o tipo de pólen (P) (A ou B), a concentração do mesmo (Cc) de 2 g/L ou 4 g/L e o tempo de cura (T), 1, 30 ou 45 dias após a laboração podendo estas diferenças ser observadas na Tabela 12. Na Tabela 11 aparece o termo “Controlo”. Este refere-se aos queijos controlo aos quais não foi adicionado pólen, pelo que a concentração deste foi de 0 g/L como se pode constatar. Para além da análise de variância entre estes fatores mencionados de forma isolada, estudaram-se também as diferenças significativas das interligações entre eles como se pode observar na Tabela 12. Consultando os resultados, é de verificação direta, que alguns parâmetros tiveram acentuada influência, por exemplo, do tempo de cura, diminuindo ao longo do processo de maturação. Estes parâmetros foram o teor de humidade e de HIMG. Por outro lado, os parâmetros proteína, gordura, e valor energético mostraram aumento ao longo da maturação dos queijos.

A Tabela 12 mostra que o tempo de cura foi o fator para o qual houve mais parâmetros a apresentarem diferenças significativas, influenciando bastante os resultados obtidos. Apenas a percentagem de MGES não apresentou diferenças significativas relativamente ao tempo de maturação dos queijos. Por sua vez o tipo de pólen adicionado originou poucas diferenças nos parâmetros químicos sendo que a influência deste fator se fez sentir mais acentuadamente no teor de proteína. Por fim, a concentração de pólen adicionada provocou diferenças significativas em vários parâmetros à exceção da percentagem de gordura, hidratos de carbono e MGES.

Na Figura 9 estão representadas as projeções de componentes principais dos parâmetros descritos na Tabela 11. Esta Figura facilita a interpretação da tabela mencionada e expõe a mesma, de uma forma mais simples e visual. Pode-se observar, consultando então a Figura 9 que vários parâmetros foram mais elevados sob influência de determinados fatores, por exemplo, a percentagem de proteína, valor energético, gordura e extrato seco detiveram maior valor aquando do tempo de cura de 45, o que pode ser confirmado consultando então a Tabela 11. Verificando novamente a Figura 9 pode-se também visualizar que a percentagem de MGES foi mais elevada nos queijos “controlo”, sem adição de pólen.

Tabela 11 – Resultados dos parâmetros químicos dos queijos fabricados ao longo do processo de cura.

| Parâmetro | | Controlo | Pólen A | | Pólen B | |
|--------------|----|-----------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | | 0 | 2 g/L | 4 g/L | 2 g/L | 4 g/L |
| H (%) | 1 | 58,17±0,48 | 56,19±1,69 ^e | 59,24±0,64 ^f | 59,57±1,61 ^e | 59,39±1,52 ^f |
| | 30 | 30,54±1,91 | 22,91±0,47 ^c | 28,1±0,16 ^d | 23,97±0,26 ^c | 25,51±0,6 ^d |
| | 45 | 25,21±1,98 | 20,83±0,21 ^a | 23,17±0,75 ^b | 20,53±0,75 ^a | 20,51±0,13 ^b |
| ES (%) | 1 | 41,84±0,48 | 43,82±1,69 ^b | 40,76±0,64 ^a | 40,43±1,61 ^b | 40,61±1,52 ^a |
| | 30 | 69,46±1,91 | 77,10±0,47 ^d | 71,91±0,16 ^c | 76,03±0,26 ^d | 74,49± 0,6 ^c |
| | 45 | 74,79±1,98 | 79,17±0,21 ^f | 76,84±0,75 ^e | 79,48±0,75 ^f | 79,49±0,13 ^e |
| P (%) | 1 | 15,68±0,46 | 17,53±0,28 ^c | 16,87±0,52 ^{bc} | 14,77±0,39 ^a | 15,53±1,18 ^b |
| | 30 | 15,68±0,46 | 30,16±0,12 ^e | 27,78±0,2 ^d | 28,21±0,89 ^d | 28,9±0,11 ^d |
| | 45 | 15,68±0,46 | 31,79±0,33 ^f | 30,52±0,3 ^e | 30,95±0,14 ^{ef} | 31,33±0,2 ^f |
| G (%) | 1 | 22,53±1,29 | 19,53±1,77 ^a | 19,23±0,95 ^a | 19,47±0,7 ^a | 18,23±1,76 ^a |
| | 30 | 33,96±1,15 | 33,91±0,4 ^b | 31,7±0,28 ^b | 32,58±0,27 ^b | 33,22±0,67 ^b |
| | 45 | 36,46±1,15 | 35,05±0,27 ^c | 35,32±0,45 ^c | 34,7±0,23 ^c | 35,08±0,27 ^c |
| C (%) | 1 | 3,14±0,26 | 4,77±1,2 ^a | 3,67±0,57 ^a | 4,42±0,1 ^a | 3,72±0,39 ^a |
| | 30 | 5,78±0,48 | 8,17±0,17 ^d | 6,68±0,23 ^b | 9,53±1,23 ^e | 7,42±0,13 ^{bc} |
| | 45 | 6,5±0,71 | 7,99±0,09 ^{cd} | 6,99±0,38 ^{bc} | 8,52±0,54 ^d | 8,26±0,2 ^{cd} |
| E (kcal) | 1 | 267,41±7,11 | 253,81±7,01 ^b | 244,47±6,43 ^a | 241,37±4,58 ^a | 238,67±5,67 ^a |
| | 30 | 424,53±11,66 | 445,25±2,93 ^e | 419,44±0,88 ^c | 428,87±4,99 ^d | 434,39±5,73 ^d |
| | 45 | 455,49±5,12 | 459,94±2,13 ^f | 455,96±3,64 ^f | 457,28±1,24 ^f | 460,31±1,78 ^f |
| HC (%) | 1 | 0,50±0,89 | 1,99±2,30 ^a | 0,98±1,28 ^a | 1,78±1,83 ^a | 3,14±1,66 ^a |
| | 30 | 3,43±0,38 | 4,86±0,30 ^b | 5,75±0,29 ^b | 5,70±0,33 ^b | 4,97±0,47 ^b |
| | 45 | 2,77±0,74 | 4,34±0,42 ^b | 4,00±0,40 ^b | 5,31±0,34 ^b | 4,84±0,27 ^b |
| Na (mg/100g) | 1 | 533,2 ± 16,1 | 1126,9±317,2 ^a | 663,9±132,2 ^a | 1100,9 ±77,2 ^a | 863,8±229,2 ^a |
| | 30 | 11152,1 ± 112,7 | 1755,6 ±178,7 ^b | 1619,1±349,1 ^b | 2591,7±753,9 ^d | 1740,2 ±65,4 ^b |
| | 45 | 1387,34 ± 262,7 | 2003,2±172,6 ^{bc} | 1504,2 ±170,1 ^b | 2064,1±223,5 ^c | 2024,6±168,1 ^{bc} |
| Sal (g/100g) | 1 | 1,34±0,04 | 2,82±0,79 ^a | 1,66±0,33 ^a | 2,75±0,19 ^a | 2,16±0,57 ^a |
| | 30 | 2,88±0,28 | 4,39±0,45 ^b | 4,05±0,87 ^b | 6,48±1,88 ^d | 4,35±0,16 ^b |
| | 45 | 3,47±0,66 | 5,01±0,43 ^c | 3,76±0,42 ^{ab} | 5,16±0,56 ^c | 5,06±0,42 ^{bc} |
| pH | 1 | 5,33±0,13 | 5,35±0,01 ^a | 5,70±0,27 ^b | 5,34±0,17 ^a | 5,58±0,04 ^b |
| | 30 | 5,46±0,06 | 5,77±0,06 ^c | 5,39±0,03 ^a | 5,98±0,26 ^c | 5,50±0,12 ^a |
| | 45 | 5,52±0,11 | 5,65±0,05 ^b | 5,43±0,04 ^{ab} | 5,64±0,11 ^b | 5,58±0,05 ^{ab} |
| Ac | 1 | 0,9±0,07 | 1,06±0,01 ^b | 0,75±0,21 ^a | 1,06±0,15 ^b | 0,83±0,05 ^a |
| | 30 | 1,31±0,07 | 1,03±0,05 ^b | 1,57±0,06 ^{cd} | 0,80±0,23 ^a | 1,36±0,08 ^c |
| | 45 | 1,34±0,12 | 1,22±0,10 ^b | 1,65±0,09 ^d | 1,23±0,12 ^b | 1,39±0,07 ^{cd} |
| MGES (%) | 1 | 53,85±3,21 | 44,73±5,77 | 47,19±2,62 | 48,24±3,37 | 45,03±5,87 |
| | 30 | 48,88±0,33 | 43,98±0,40 | 44,09±0,37 | 42,85±0,44 | 44,59±0,72 |

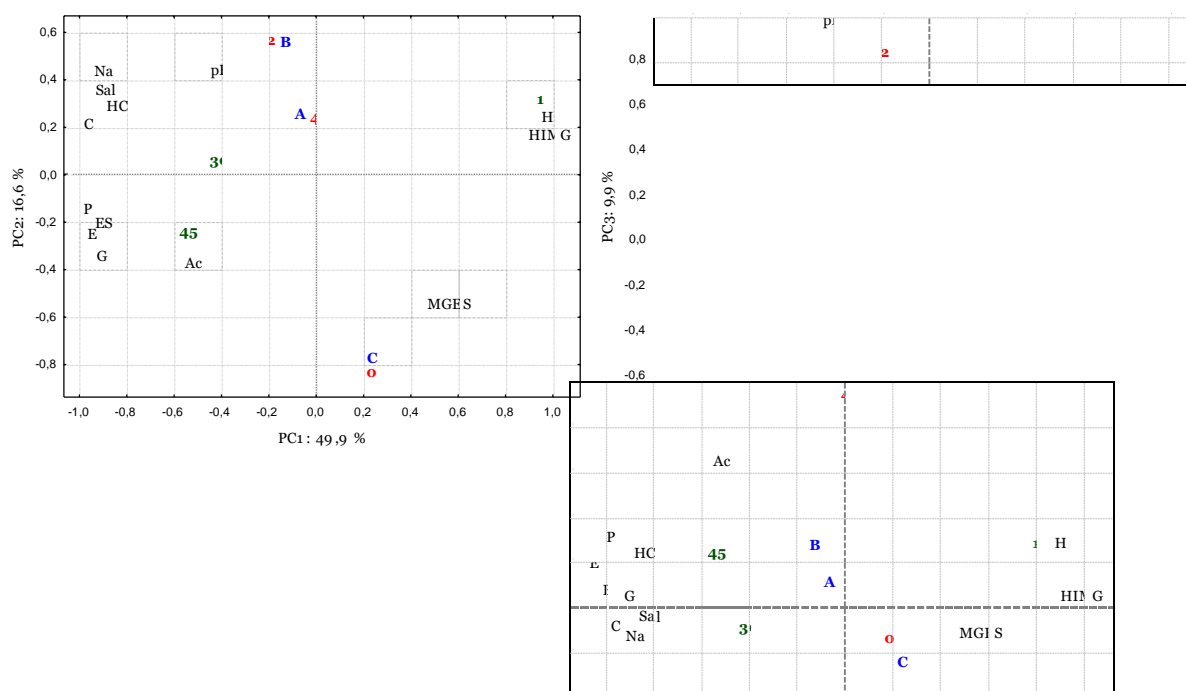
| | | | | | | |
|-----------------|----|------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 45 | 48,78±1,29 | 44,27±0,27 | 45,97±0,28 | 43,66±0,52 | 44,12±0,37 |
| HIMG (%) | 1 | 75,09±1,47 | 69,88±3,63 ^d | 73,36±1,33 ^d | 73,99±2,49 ^d | 72,68±3,32 ^d |
| | 30 | 46,21±2,08 | 34,66±0,60 ^b | 41,14±0,23 ^c | 35,56±0,46 ^b | 38,2±0,73 ^c |
| | 45 | 39,67±3,11 | 32,07±0,24 ^a | 35,81±0,94 ^b | 31,44±1,16 ^a | 31,58±0,27 ^b |

H – Humidade; ES – Extrato seco; P- Proteína; G- Gordura; C – Cinzas; E- Valor Energético; HC- Hidratos de Carbono; Na – Sódio; Ac- Acidez; MGES – Matéria Gorda na Extrato Seco; HIMG – Humidade Isenta Matéria Gorda.

Tabela 12 –Análise de variância para os queijos fabricados em função do tipo de pólen adicionado, da concentração de pólen usada, do tempo de cura e as interligações entre estes.

| Parâmetro | P | Cc | T | P*Cc | P*T | Cc*T | R |
|---------------------|---------|----------|----------|---------|---------|----------|-------|
| H (%) | n.s. | 0,5 *** | 98,6*** | 0,3 *** | 0,3 *** | 0,2 ** | 0,1 |
| ES (%) | n.s. | 0,52*** | 98,60*** | n.s. | n.s. | 0,15** | 1,13 |
| P (%) | 0,44*** | 0,13* | 96,99*** | 1,63*** | 0,54*** | n.s. | 0,27 |
| G (%) | n.s. | n.s. | 99,32** | n.s. | n.s. | n.s. | 0,62 |
| C (%) | 1,44* | 11,00*** | 78,70*** | n.s. | 2,57* | 2,82* | 3,48 |
| E (kcal) | 0,04* | 0,12** | 99,41*** | 0,30*** | n.s. | n.s. | 0,12 |
| HC (%) | n.s. | n.s. | 80,80*** | n.s. | n.s. | n.s. | 19,20 |
| Na (mg/100g) | 3,55* | 15,50*** | 67,79*** | n.s. | n.s. | n.s. | 13,16 |
| Sal (g/100g) | 4,11* | 15,97*** | 68,51*** | n.s. | n.s. | n.s. | 11,41 |
| pH | n.s. | 5,55* | 6,16** | n.s. | n.s. | 77,08*** | 11,22 |
| Ac | 2,08* | 11,36*** | 28,77*** | n.s. | n.s. | 52,42*** | 5,36 |
| MGES (%) | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. | n.s. |
| HIMG (%) | n.s. | 0,75*** | 98,57*** | n.s. | n.s. | 0,30* | 0,37 |

n.s (diferenças não significativas): $p > 0,05$; *: $0,05 < p < 0,01$; **: $0,01 < p < 0,001$; *** : $p < 0,001$



-1,0 -0,8 -0,6 -0,4 -0,2 0,0 0,2 0,4 0,6 0,8 1,0 P 1: 49,9 %
C

Figura 9 – Projeção dos três componentes principais (PC1 vs PC2 e PC1 vs PC3) dos parâmetros dos queijos fabricados.

3.3.2.2. Perfil de Ácidos gordos

O perfil dos ácidos gordos analisados, com auxílio da técnica de cromatografia gasosa, está representado na Tabela 13. Nesta tabela mencionada apresentam-se as percentagens dos ácidos gordos tendo em conta o seu valor médio e desvio padrão, assim como os valores médios e desvios padrão dos ácidos gordos saturados (SFA), monoinsaturados (MUFA) e polinsaturados (PUFA). Ao consultarmos a Tabela 13, constata-se que, independentemente do tipo e concentração de pólen adicionado e tempo de cura, o ácido gordo que revelou estar presente em maior concentração foi o ácido oleico (C18:1), seguido do ácido palmítico (C16:0). O ácido oleico é um ácido gordo insaturado, mais precisamente monoinsaturado, portanto, tendo em conta os efeitos benéficos associados aos ácidos gordos insaturados descritos no capítulo 1, estes queijos produzidos apresentam algum potencial benéfico. No entanto, não se observa, nos resultados, que isto esteja relacionado, ou não, com adição de pólen de abelha.

O fator tempo de cura (T), tal como sucedeu no ponto anterior, foi aquele que originou mais diferenças significativas no perfil dos ácidos gordos, sendo esta observação facilitada pela consulta da Tabela 14. Na Tabela 14 verifica-se que apenas o ácido butírico (C4:0) e o ácido margárico (C17:0) não apresentaram diferenças significativas pela influência do período da maturação. Por sua vez, tanto a influência do tipo de pólen adicionado como a da concentração usada foram residuais visto que praticamente nenhum ácido gordo apresentou diferenças significativas para estes fatores quando estudada a sua influência de forma isolada. Como já foi referido, para as concentrações usadas (2 g/L e de 4 g/L) não houve alteração significativa na maior parte dos ácidos gordos detetados assim como para o tipo de pólen usado (A ou B).

Tal como no ponto 3.3.2.1, no presente ponto também se recorreu a projeções de componentes principais (Figura 10) para se observar o comportamento, neste caso do perfil de ácidos gordos, ao longo do período de cura tendo em conta a concentração e o tipo de pólen de abelha adicionado. Na Figura 10 podemos observar facilmente que vários ácidos gordos estavam presentes em maior concentração tendo em conta a influência de determinados parâmetros. Por exemplo, os ácidos gordos oleico e palmítico, mencionados anteriormente como sendo aqueles que estão presentes em maior concentração relativamente aos restantes, possuem uma percentagem maior no período de 1 dia após a laboração, isto é, com 1 dia de cura.

Tabela 13 – Médias e desvios padrão dos ácidos gordos dos queijos fabricados durante a maturação dos mesmos.

| AG (%) | | Controlo | Pólen A | | Pólen B | |
|--------|----|------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | | o | 2 g/L | 4 g/L | 2 g/L | 4 g/L |
| C4:0 | 1 | 0,32±0,05 | 0,30±0,05 ^a | 0,37±0,11 ^{ab} | 0,29±0,08 ^a | 0,34±0,05 ^{ab} |
| | 30 | 0,33±0,07 | 0,37±0,03 ^{ab} | 0,44±0,12 ^{ab} | 0,39±0,04 ^{ab} | 0,36±0,09 ^{ab} |
| | 45 | 0,41±0,03 | 0,41±0,12 ^{ab} | 0,45±0,18 ^b | 0,41±0,06 ^{ab} | 0,31±0,10 ^{ab} |
| C6:0 | 1 | 0,52±0,11 | 0,52±0,09 | 0,62±0,15 | 0,50±0,12 | 0,55±0,07 |
| | 30 | 0,62±0,14 | 0,68±0,07 | 0,73±0,17 | 0,76±0,05 | 0,68±0,14 |
| | 45 | 0,75±0,03 | 0,75±0,18 | 0,73±0,24 | 0,76±0,09 | 0,57±0,18 |
| C8:0 | 1 | 1,03±0,16 | 0,99±0,13 | 1,12±0,17 | 0,94±0,15 | 0,99±0,07 |
| | 30 | 1,15±0,12 | 1,19±0,10 | 1,29±0,17 | 1,37±0,06 | 1,27±0,14 |
| | 45 | 1,36±0,03 | 1,34±0,18 | 1,24±0,26 | 1,34±0,10 | 1,15±0,18 |
| C10:0 | 1 | 4,98±0,59 | 4,84±0,40 | 5,14±0,39 | 4,60±0,41 | 4,72±0,22 |
| | 30 | 5,46±0,22 | 5,26±0,23 | 5,72±0,38 | 5,91±0,14 | 5,68±0,26 |
| | 45 | 5,90±0,11 | 5,80±0,37 | 5,39±0,61 | 5,79±0,26 | 5,48±0,30 |
| C12:0 | 1 | 4,03±0,29 | 3,97±0,18 | 4,08±0,13 | 3,88±0,16 | 3,90±0,10 |
| | 30 | 4,42±0,08 | 4,19±0,06 | 4,38±0,14 | 4,41±0,05 | 4,30±0,07 |
| | 45 | 4,42±0,06 | 4,36±0,14 | 4,16±0,20 | 4,34±0,08 | 4,30±0,08 |
| C14:0 | 1 | 10,36±0,25 | 10,23±0,15 | 10,37±0,09 | 10,27±0,16 | 10,18±0,25 |
| | 30 | 10,98±0,09 | 10,58±0,06 | 10,80±0,11 | 10,67±0,06 | 10,55±0,05 |
| | 45 | 10,66±0,06 | 10,61±0,23 | 10,37±0,16 | 10,55±0,02 | 10,57±0,12 |
| C15:0 | 1 | 0,83±0,00 | 0,83±0,01 ^b | 0,83±0,02 ^{ab} | 0,83±0,01 ^b | 0,83±0,01 ^{ab} |
| | 30 | 0,84±0,00 | 0,82±0,01 ^{ab} | 0,84±0,00 ^{ab} | 0,83±0,00 ^{ab} | 0,82±0,00 ^{ab} |
| | 45 | 0,82±0,00 | 0,82±0,02 ^a | 0,81±0,01 ^a | 0,82±0,00 ^a | 0,82±0,01 ^a |
| C16:0 | 1 | 24,97±0,30 | 25,06±0,17 ^c | 24,81±0,54 ^{cde} | 25,36±0,22 ^f | 25,06±0,33 ^{cf} |
| | 30 | 24,93±0,09 | 24,44±0,26 ^{bde} | 24,83±0,18 ^{ce} | 24,08±0,11 ^{ab} | 24,18±0,15 ^{abd} |
| | 45 | 23,96±0,19 | 23,94±0,31 ^a | 23,89±0,57 ^{ab} | 23,89±0,18 ^a | 24,01±0,22 ^a |
| C16:1 | 1 | 1,02±0,01 | 1,00±0,01 ^{bc} | 0,99±0,01 ^{bde} | 1,01±0,00 ^c | 1,01±0,02 ^{bc} |
| | 30 | 1,00±0,01 | 0,98±0,01 ^{ad} | 1,01±0,01 ^{bc} | 0,98±0,01 ^{ade} | 0,99±0,00 ^{be} |
| | 45 | 0,98±0,01 | 0,97±0,01 ^a | 0,97±0,02 ^a | 0,97±0,01 ^a | 0,98±0,00 ^a |
| C17:0 | 1 | 0,26±0,00 | 0,26±0,00 | 0,25±0,01 | 0,24±0,02 | 0,23±0,02 |
| | 30 | 0,24±0,01 | 0,25±0,01 | 0,24±0,02 | 0,25±0,00 | 0,26±0,00 |
| | 45 | 0,26±0,01 | 0,25±0,00 | 0,25±0,01 | 0,25±0,00 | 0,25±0,00 |
| C18:0 | 1 | 11,75±0,43 | 12,22±0,23 ^d | 11,73±0,57 ^e | 12,19±0,16 ^d | 12,08±0,35 ^d |
| | 30 | 11,36±0,11 | 11,10±0,15 ^{bc} | 11,26±0,16 ^{be} | 10,76±0,15 ^{ab} | 10,93±0,10 ^{abc} |
| | 45 | 10,72±0,14 | 10,69±0,14 ^a | 10,85±0,44 ^{abc} | 10,72±0,09 ^a | 10,76±0,15 ^{ab} |

| | | | | | | |
|-------|----|------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| C18:1 | 1 | 26,72±0,63 | 26,40±0,41 ^{df} | 25,78±0,76 ^{bcef} | 26,53±0,36 ^d | 26,66±0,21 ^d |
| | 30 | 25,84±0,40 | 25,28±0,38 ^{abc} | 26,26±0,50 ^{def} | 25,08±0,16 ^{abc} | 25,54±0,18 ^{ce} |
| | 45 | 25,07±0,21 | 24,87±0,70 ^{ab} | 25,07±0,89 ^{abc} | 24,83±0,42 ^a | 25,12±0,32 ^{abc} |
| C18:2 | 1 | 3,11±0,09 | 3,28±0,14 ^{ef} | 3,12±0,04 ^{cd} | 3,18±0,08 ^{de} | 3,40±0,15 ^f |
| | 30 | 3,08±0,15 | 2,99±0,05 ^{abc} | 3,05±0,07 ^{bcd} | 2,96±0,08 ^{abc} | 3,00±0,04 ^{abc} |
| | 45 | 2,91±0,02 | 2,90±0,08 ^a | 2,95±0,09 ^{ab} | 2,90±0,09 ^a | 2,90±0,03 ^a |
| C18:3 | 1 | 1,28±0,02 | 1,33±0,08 ^{de} | 1,28±0,03 ^{cd} | 1,36±0,04 ^e | 1,32±0,02 ^d |
| | 30 | 1,21±0,03 | 1,22±0,02 ^{ab} | 1,27±0,02 ^{bcd} | 1,23±0,02 ^{abc} | 1,26±0,01 ^{bc} |
| | 45 | 1,21±0,02 | 1,20±0,02 ^a | 1,23±0,04 ^{abc} | 1,19±0,02 ^a | 1,19±0,01 ^a |
| C20:0 | 1 | 0,22±0,02 | 0,23±0,01 | 0,25±0,05 | 0,23±0,01 | 0,24±0,00 |
| | 30 | 0,12±0,14 | 0,27±0,01 | 0,00±0,00 | 0,20±0,00 | 0,20±0,01 |
| | 45 | 0,24±0,00 | 0,25±0,00 | 0,26±0,02 | 0,25±0,01 | 0,25±0,00 |
| C22:2 | 1 | 0,02±0,03 | 0,00±0,00 ^a | 0,01±0,02 ^{ab} | 0,00±0,00 ^a | 0,09±0,12 ^{ab} |
| | 30 | 0,00±0,00 | 0,43±0,12 ^c | 0,00±0,00 ^a | 0,21±0,05 ^b | 0,07±0,07 ^{ab} |
| | 45 | 0,24±0,15 | 0,45±0,35 ^c | 0,57±0,19 ^{cd} | 0,59±0,14 ^{cd} | 0,66±0,09 ^d |
| C22:5 | 1 | 0,21±0,01 | 0,19±0,01 | 0,19±0,01 | 0,19±0,01 | 0,20±0,01 |
| | 30 | 0,00±0,00 | 0,19±0,00 | 0,00±0,00 | 0,18±0,00 | 0,19±0,00 |
| | 45 | 0,19±0,00 | 0,18±0,00 | 0,18±0,01 | 0,18±0,00 | 0,18±0,00 |
| SFA | 1 | 13,35±0,50 | 11,61±0,28 | 11,46±0,42 | 11,55±0,29 | 10,78±0,27 |
| | 30 | 20,53±0,36 | 20,06±0,33 | 19,18±0,46 | 19,42±0,22 | 19,26±0,34 |
| | 45 | 21,70±0,24 | 20,75±0,60 | 17,25±0,95 | 20,52±0,31 | 20,51±0,47 |
| M UFA | 1 | 6,25±0,15 | 5,35±0,08 ^{ce} | 5,15±0,15 ^{bde} | 5,36±0,07 ^c | 5,04±0,04 ^c |
| | 30 | 9,12±0,14 | 8,90±0,13 ^{ab} | 8,64±0,16 ^{cde} | 8,49±0,05 ^{ab} | 8,81±0,06 ^{bd} |
| | 45 | 9,50±0,08 | 9,06±0,25 ^a | 9,20±0,32 ^{ab} | 8,95±0,15 ^a | 9,15±0,12 ^{ab} |
| I UFA | 1 | 1,04±0,03 | 0,94±0,04 | 0,88±0,02 | 0,92±0,02 | 0,91±0,05 |
| | 30 | 1,46±0,06 | 1,64±0,06 | 1,37±0,03 | 1,49±0,05 | 1,50±0,04 |
| | 45 | 1,66±0,07 | 1,65±0,16 | 1,74±0,12 | 1,69±0,09 | 1,73±0,05 |

Tabela 14 – Análise de variância em função do tipo de pólen adicionado, da concentração de pólen usada, do tempo de cura e as interligações entre estes relativamente ao perfil de ácidos gordos da Tabela 13.

| AG (%) | P | Cc | T | P*C | P*T | Cc*T | R |
|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|------|
| C4:0 | n.s | n.s | n.s | n.s | n.s | n.s | n.s |
| C6:0 | n.s | n.s | 27,9** | n.s | n.s | n.s | 72,1 |
| C8:0 | n.s | n.s | 49,0*** | n.s | n.s | n.s | 51,0 |
| C10:0 | n.s | n.s | 53,6*** | n.s | 9,7* | n.s | 34,0 |
| C12:0 | n.s | n.s | 68,9*** | n.s | n.s | n.s | 31,1 |
| C14:0 | n.s | n.s | 62,0*** | n.s | n.s | n.s | 38,0 |
| C15:0 | n.s | n.s | 34,8*** | n.s | n.s | n.s | 65,2 |
| C16:0 | n.s | n.s | 67,0*** | n.s | 14,2** | n.s | 18,8 |
| C16:1 | n.s | n.s | 55,3*** | n.s | n.s | 27,6** | 27,0 |
| C17:0 | n.s | n.s | n.s | n.s | n.s | n.s | n.s |
| C18:0 | n.s | n.s | 80,0*** | n.s | 4,0* | 4,0* | 12,0 |
| C18:1 | n.s | n.s | 51,9*** | n.s | 9,8* | 9,8* | 0,3 |
| C18:2 | n.s | n.s | 74,2*** | n.s | n.s | n.s | 25,8 |
| C18:3 | n.s | n.s | 62,9*** | n.s | 5,5* | 13,6** | 18,0 |
| C20:0 | n.s | 6,9** | 19,5*** | 14,8*** | 7,1* | 33,8*** | 18,0 |
| C22:2 | n.s | n.s | 22,1*** | n.s | n.s | 5,5*** | 72,3 |
| C22:5 | 7,9*** | 6,1*** | 13,5*** | 17,5*** | 19,8*** | 23,8*** | 11,3 |
| SFA | n.s | n.s | 21,6** | n.s | n.s | 19,5* | 58,9 |
| MUFA | n.s | n.s | 52,6*** | n.s | 10,0* | 10,0* | 28,2 |
| PUFA | n.s | n.s | 25,6*** | 16,7** | n.s | 25,7*** | 25,6 |

n.s (diferenças não significativas): $p > 0,05$; * : $0,05 < p < 0,01$; ** : $0,01 < p < 0,001$; *** : $p < 0,001$

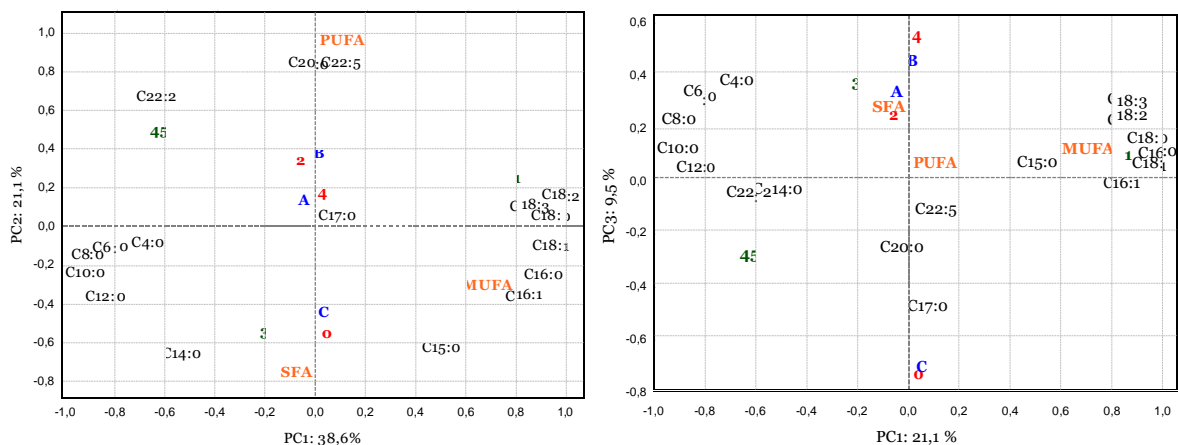


Figura 10– Projeção dos três componentes principais (PC1 vs PC2 e PC1 vs PC3) dos ácidos gordos dos queijos fabricados.

3.3.2.3. Parâmetros físicos

Neste trabalho os parâmetros físicos analisados foram a cor e a textura. Para a cor teve-se em conta as coordenadas L^* , a^* e b^* na face inferior dos queijos (L^*1 , a^*1 , b^*1), na face superior dos queijos (L^*2 , a^*2 , b^*2) e na face lateral/à volta dos queijos (L^*3 , a^*3 , b^*3). Para a textura estudou-se a Coesividade, a Dureza, a Elasticidade, a Firmeza e a Mastigabilidade dos queijos.

Relativamente à cor, esta foi evidenciada não só pelos valores médios e desvios padrão (Tabela 15) e da análise estatística (Tabela 16) mas também recorrendo a fotografias. As fotografias foram tiradas aos queijos após a laboração, com 1 dia de cura (Figura 11), passados 30 dias de cura (Figura 12) e após 45 dias de cura (Figura 13). Apenas observando as figuras referidas é notável a diferença de cor durante o processo de cura, sendo que estas mostram que apenas após 1 dia de cura é que era possível verificar, a olho nu, diferenças significativas entre os tipos de queijo de modo a estes serem identificados pelo tipo e concentração de pólen adicionado, pois passados 30 e 45 dias, todos os queijos eram demasiado semelhantes para serem distinguidos a olho nu. Consultando a Tabela 15 é de notar que o valor médio da coordenada L^* , referente ao brilho/luminosidade, era bastante mais elevado após 1 dia de cura, diminuindo drasticamente ao longo do processo de maturação. As projeções de componentes principais (Figura 14) mostram que, à exceção da coordenada L^* , as outras coordenadas acentuaram-se mais após 30 e 45 dias de cura. Mais uma vez, o tempo de cura volta a ser um fator que influencia muito os resultados, podendo isso evidenciar-se na Tabela 16, onde se constata que, por outro lado, os fatores tipo de pólen e concentração não contribuíram propriamente para criar diferenças significativas na maior parte das coordenadas analisadas.

Na Tabela 17 encontram-se os valores médios e desvios padrão referentes aos parâmetros caracterizadores da textura nos queijos fabricados. Estes parâmetros são a Coesividade (C), Dureza (D), Elasticidade (E), Firmeza (F) e Mastigabilidade (M). Na Tabela 17 está descrita também a análise de variância para os mesmos fatores da análise de variância da cor. Na análise da textura apenas se efetuaram testes após 30 e 45 dias de cura. O parâmetro que apresentou mais diferenças significativas foi a firmeza. Nestas análises, o fator que levou a mais diferenças foi a concentração, sendo que o tipo de pólen e o tempo de cura tiveram uma influência muito semelhante. Ao consultar as projeções de componentes principais é de notar que o parâmetro elasticidade apresentou maior valor sempre que se tinha o g/L de pólen, ou seja, a elasticidade foi maior nos queijos controlo. A dureza, firmeza e mastigabilidade mostraram-se mais elevadas sobretudo para uma concentração de pólen de 2 g/L e no tipo de pólen A e B comparando com os queijos controlo, sem pólen incorporado.



C

A2

A4

B2

B4

Figura 11– Queijos após laboração (1 dia de cura): queijo controlo (C), queijo com pólen A em 2g/L (A2), queijo com pólen A em 4 g/L (A4), queijo com pólen B em 2g/L (B2) e queijo com pólen B em 4 g/L (B4).



C

A2

A4

B2

B4

Figura 12– Queijos após 30 dias de cura: queijo controlo (C), queijo com pólen A em 2g/L (A2), queijo com pólen A em 4 g/L (A4), queijo com pólen B em 2g/L (B2) e queijo com pólen B em 4 g/L (B4).



C

A2

A4

B2

B4

Figura 13- Queijos após 45 dias de cura: queijo controlo (C), queijo com pólen A em 2g/L (A2), queijo com pólen A em 4 g/L (A4), queijo com pólen B em 2g/L (B2) e queijo com pólen B em 4 g/L (B4).

Tabela 15 – Médias e desvios padrão das coordenadas de cor dos queijos fabricados.

| | | Controlo | Pólen A | | Pólen B | |
|-----|----|------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | | o | 2 g/L | 4 g/L | 2 g/L | 4 g/L |
| L*1 | 1 | 90,42±1,61 | 86,13±0,88 ^c | 87,64±1,90 ^c | 85,15±1,12 ^c | 85,05±1,44 ^c |
| | 30 | 63,01±1,55 | 71,39±0,42 ^b | 65,05±4,15 ^b | 66,14±4,72 ^{ab} | 66,95±5,27 ^{ab} |
| | 45 | 61,90±3,79 | 69,56±0,84 ^{ab} | 62,31±3,55 ^{ab} | 64,70±2,88 ^a | 66,02±3,59 ^a |
| a*1 | 1 | -3,40±0,58 | -3,82±0,04 ^a | -3,88±0,20 ^a | -3,66±0,03 ^b | -3,82±0,10 ^b |
| | 30 | -2,14±0,59 | -3,60±0,28 ^a | -3,41±0,78 ^a | -2,86±1,55 ^b | -3,02±1,64 ^b |
| | 45 | -1,84±0,93 | -4,36±0,14 ^a | -3,48±0,73 ^a | -2,89±0,14 ^b | -3,57±0,91 ^b |
| b*1 | 1 | 15,00±4,30 | 18,29±0,72 ^a | 18,12±0,80 ^a | 16,38±0,33 ^a | 17,94±1,38 ^a |
| | 30 | 20,96±1,23 | 27,37±2,19 ^b | 24,45±0,93 ^b | 26,26±2,02 ^b | 28,58±2,07 ^b |
| | 45 | 18,14±0,61 | 31,28±1,52 ^c | 28,26±3,88 ^c | 26,45±1,80 ^c | 32,45±2,27 ^c |
| L*2 | 1 | 89,12±2,05 | 88,27±0,37 ^c | 88,74±0,36 ^c | 88,23±0,67 ^c | 88,44±0,60 ^c |
| | 30 | 63,17±1,67 | 71,31±2,16 ^b | 61,97±1,44 ^a | 71,37±4,62 ^b | 67,86±5,94 ^a |
| | 45 | 63,67±2,37 | 69,23±1,12 ^a | 64,44±1,84 ^a | 63,21±3,39 ^a | 69,75±1,01 ^a |
| a*2 | 1 | -3,34±0,53 | -4,08±0,12 ^a | -4,00±0,05 ^a | -3,95±0,10 ^a | -4,01±0,03 ^a |
| | 30 | -2,56±0,50 | -4,41±0,14 ^a | -2,42±0,86 ^a | -2,51±0,61 ^b | -3,76±0,50 ^b |
| | 45 | -1,80±0,58 | -4,12±0,52 ^b | -1,69±0,67 ^b | -1,14±0,10 ^c | -3,21±0,63 ^c |
| b*2 | 1 | 14,42±3,73 | 19,21±0,50 ^a | 18,96±0,67 ^a | 17,72±0,94 ^a | 18,58±1,05 ^a |
| | 30 | 19,48±0,82 | 25,28±1,00 ^b | 25,70±1,75 ^b | 24,54±0,50 ^b | 27,92±1,28 ^b |
| | 45 | 19,29±1,04 | 29,18±1,34 ^c | 25,05±2,31 ^c | 25,45±2,13 ^c | 29,70±2,57 ^c |
| L*3 | 1 | 90,73±1,21 | 88,62±0,47 ^b | 88,27±1,56 ^b | 89,39±0,54 ^b | 88,74±0,91 ^b |
| | 30 | 69,35±4,72 | 68,39±5,99 ^a | 65,96±2,86 ^a | 68,19±3,66 ^a | 67,24±6,00 ^a |
| | 45 | 60,07±1,98 | 67,36±0,87 ^a | 64,49±1,77 ^a | 64,54±3,50 ^a | 64,66±4,90 ^a |
| a*3 | 1 | -3,53±0,41 | -4,00±0,05 ^a | -3,95±0,13 ^a | -3,89±0,04 ^a | -3,97±0,03 ^a |
| | 30 | -4,67±0,39 | -4,09±0,60 ^a | -3,62±0,24 ^a | -3,34±0,69 ^a | -3,74±1,21 ^a |
| | 45 | -1,46±0,45 | -3,57±0,63 ^a | -3,58±0,29 ^a | -3,63±0,80 ^a | -3,81±0,43 ^a |
| b*3 | 1 | 15,34±3,28 | 19,84±0,65 ^a | 18,49±0,79 ^a | 17,74±0,46 ^a | 19,00±1,11 ^a |
| | 30 | 25,88±0,65 | 24,67±1,90 ^b | 23,93±2,29 ^b | 25,34±2,34 ^{be} | 28,15±0,43 ^{cde} |
| | 45 | 18,94±0,43 | 30,82±2,56 ^d | 28,38±2,65 ^{cd} | 26,91±2,46 ^{bce} | 29,63±3,97 ^{cd} |

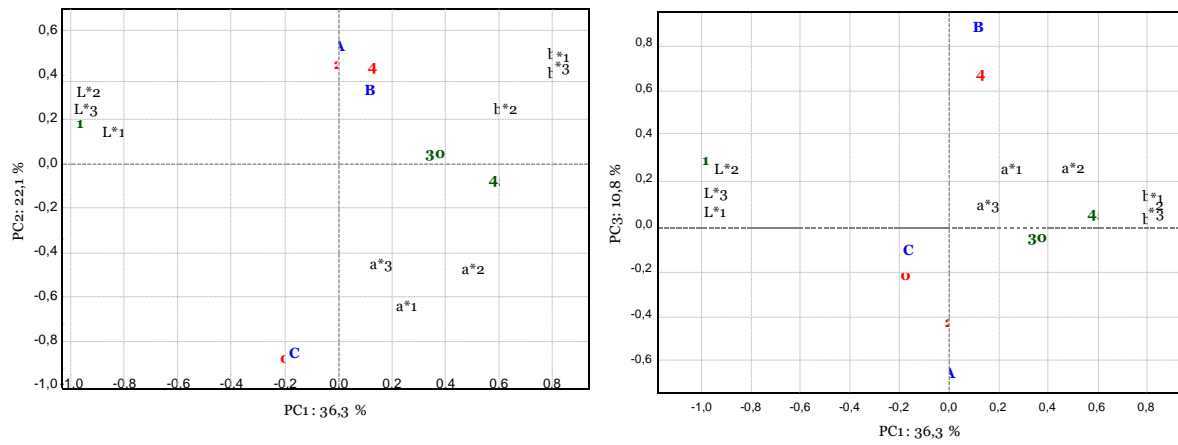


Figura 14 – Projeção dos três componentes principais (PC1 vs PC2 e PC1 vs PC3) das coordenadas de cor dos queijos fabricados.

Tabela 16 – Valores médios e desvios padrão referentes aos parâmetros caracterizadores da textura nos queijos fabricados e respetiva análise de variância.

| P | Cc | T | C | D (N) | E | F (g) | M (N) |
|---|----|----|------------------------|----------------------------|-----------|-----------------|-------------|
| C | 0 | 30 | 0,53±0,04 | 17,77±6,65 | 0,76±0,04 | 1651,06±631,52 | 9,59±4,05 |
| | | 45 | 0,52±0,04 | 32,69±13,73 | 0,76±0,02 | 3137,48±1263,31 | 17,31±8,22 |
| A | 2 | 30 | 0,51±0,05 ^a | 69,70±4,41 ^a | 0,54±0,16 | 6517,48±423,09 | 35,77±5,10 |
| | | 45 | 0,49±0,05 ^a | 62,32±12,83 ^c | 0,77±0,12 | 5898,34±1143,74 | 33,63±11,97 |
| | 4 | 30 | 0,52±0,05 ^a | 25,35±12,82 ^{bc} | 0,71±0,04 | 2324,56±1159,37 | 13,83±8,18 |
| | | 45 | 0,49±0,05 ^a | 38,71±10,15 ^{bc} | 0,72±0,04 | 3674,69±963,09 | 19,18±6,46 |
| B | 2 | 30 | 0,51±0,03 ^a | 66,62±16,64 ^{abc} | 0,68±0,09 | 6221,93±1507,30 | 34,22±9,58 |
| | | 45 | 0,52±0,05 ^a | 38,71±10,15 ^{ab} | 0,66±0,07 | 6393,24±1560,85 | 36,52±11,63 |
| | 4 | 30 | 0,51±0,04 ^a | 39,40±18,46 ^{abc} | 0,68±0,01 | 3708,16±1714,98 | 20,70±11,07 |
| | | 45 | 0,50±0,06 ^a | 50,27±7,90 ^a | 0,60±0,04 | 4794,13±729,73 | 25,29±7,01 |

C- Coesividade; D-Dureza; E- Elasticidade; F-Firmeza; M-Mastigabilidade.

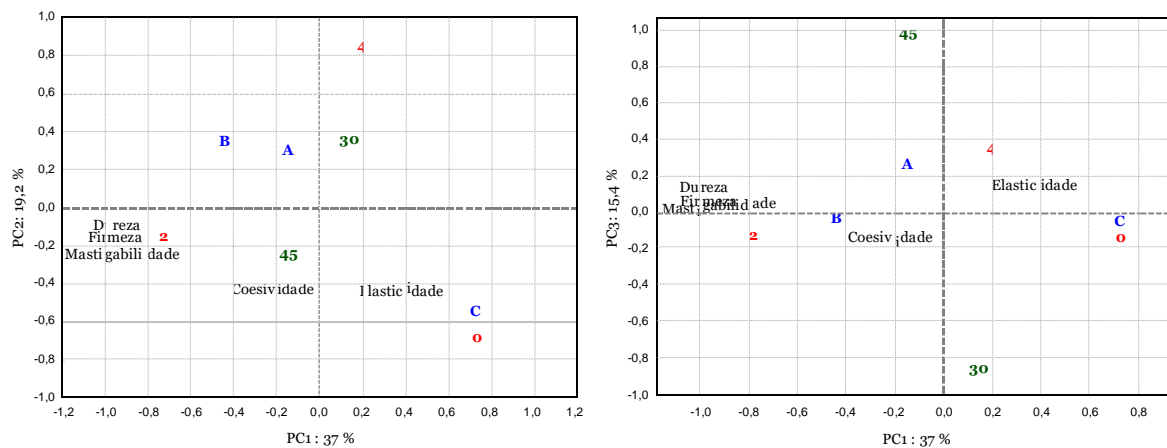


Figura 15– Projeção dos três componentes principais (PC1 vs PC2 e PC1 vs PC3) dos parâmetros da textura dos queijos fabricados.

3.4. Conclusões e perspectivas futuras

Tendo em conta os resultados interpretados anteriormente, pode-se concluir, claramente, que o fator tempo, nomeadamente ao processo de cura, tem uma influência muito acentuada quer a nível de parâmetros químicos quer físicos. Este facto pode dever-se à ação humana aquando da viragem dos queijos ao longo do processo de cura, assim como devido a reações bioquímicas que ocorrem durante este período. Para os tipos de pólen usados nas concentrações de 2 g/L e 4 g/L na maior parte dos parâmetros, não foram fatores que contribuíssem para grandes diferenças significativas, no entanto, seria interessante, futuramente, estudar estes efeitos quer para outros tipos de pólen, quer para concentrações mais elevadas.

Seria interessante complementar este estudo com resultados microbiológicos e sensoriais e estabelecer relações entre estes e os físico-químicos já discutidos, pois parâmetros como o pH, teor de sal, entre outros, têm influência no crescimento microbiano e por sua vez existem microrganismos que são conhecidos por conferirem as propriedades organolépticas dos queijos. Para além disso, seria interessante também produzir novos queijos, mas com diferentes tipos de pólen e em concentrações mais elevadas, avaliando o potencial antioxidante não só nos queijos, mas também no soro do leite que é removido na etapa de dessoramento.

Capítulo IV

4. Bibliografia

Adams, M. R. & Moss, M. O. (2008). Food microbiology. (3th ed.). Cambridge: The Royal Society of Chemistry.

Andrade, J., Pereira, C. G., Ranquine, T., Azarias, C. A., Bell, M. J. V., & de Carvalho dos Anjos, V. (2018). Long-term ripening evaluation of ewes' cheeses by fourier-transformed infrared spectroscopy under real industrial conditions. *Journal of Spectroscopy*.

Anjos, O., Fernandes, R., Cardoso, S. M., Delgado, T., Farinha, N., Paula, V., ... & Carpes, S. T. (2019). Bee pollen as a natural antioxidant source to prevent lipid oxidation in black pudding. *LWT*, 111, 869-875.

Anjos, O., Campos, M. G., & Estevinho, M. L. (2017). Poderá o pólen ser considerado um superalimento?. *Revista do Instituto Politécnico de Castelo Branco*, 7, 20-26.

Baião, A. (2007). Acompanhamento do Processo de Fabrico do Queijo Serpa. Relatório de trabalho de fim de curso de Engenharia Técnica Alimentar. Escola Superior Agrária – Instituto Politécnico de Beja. Beja. 30 pp.

Blanco, M., & Villarroya, I. N. I. R. (2002). NIR spectroscopy: a rapid-response analytical tool. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 21(4), 240-250.

Calderón, O.; Padilla C.; Chaves C.; Villalobos L.; Arias ML. (2007). Evaluación del efecto del cultivo probiótico *Lactobacillus rhamnosus* adicionado a yogurt natural y com probióticos comerciales sobre poblaciones de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*. *Arch Latinoamer Nutric*. 57 (1), 51-56.

CARDOSO, A.L.S.P.; CASTRO, A.G.M.; TESSARI, E.N.C.; BALDASSI, L.; PINHEIRO, E.S. Pesquisa de *Salmonella* spp, coliformes totais, coliformes fecais, mesófilos, em carcaças e cortes de frango. *Higiene Alimentar*, v.19, n.128, p.144- 150, 2005.

Charlier, C., Cretenet, M., Even, S. & Le Loir, Y. (2008). Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: An old story with new perspectives. *International Journal of Food Microbiology*, 131, 30-39.

CHEN, M., & IRUDAYARAJ, J. (1998). Sampling technique for cheese analysis by FTIR spectroscopy. *Journal of food science*, 63(1), 96-99.

Comissão Europeia (2007) European policy for quality agricultural products, Office for Official Publications of the European Communities, Luxemburgo.

Comissão Europeia (sem data) Download Logos <https://ec.europa.eu/info/food-farmingfisheries/food-safety-and-quality/certification/quality-labels/quality-schemes-explained#logos>

Costa, R. G., Queiroga, R. D. C. R., & Pereira, R. A. (2009). Influência do alimento na produção e qualidade do leite de cabra. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(SPE), 307-321.

Curda, L., & Kukačková, O. (2004). NIR spectroscopy: a useful tool for rapid monitoring of processed cheeses manufacture. *Journal of Food Engineering*, 61(4), 557-560.

Denisow, B., & Denisow-Pietrzyk, M. (2016). Biological and therapeutic properties of bee pollen: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(13), 4303-4309.

DGADR, 2011
https://www.dgadr.gov.pt/images/docs/val/qj_ett/Desdobravel_queijos_CTT.pdf

DR (1985). Decreto Regulamentar n.º42/85 - cria a Região Demarcada do Queijo Serra da Estrela. *Diário da República - I Série - Nº 152 de 5 de Julho, 1847.*

DRAP Centro (2008). Produtos tradicionais de qualidade na região centro: queijo rabaçal – dop. Acedido em Dez. 4, 2010, disponível em: http://ptqc.drapc.minagricultura.pt/documentos/queijo_rabacal.htm

El-Bakry, M., & Sheehan, J. (2014). Analysing cheese microstructure: A review of recent developments. *Journal of Food Engineering*, 125, 84-96.

El Ghouizi, A., El Menyiy, N., Falcão, S. I., Vilas-Boas, M., & Lyoussi, B. (2020). Chemical composition, antioxidant activity, and diuretic effect of Moroccan fresh bee pollen in rats. *Veterinary World*, 13(7), 1251.

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

Fox, P. F., & Stepaniak, L. (1993). Enzymes in cheese technology. *International Dairy Journal*, 3(4-6), 509-530.

Fox, P.; McSweeney, P.; Cogan, T.; Guinee, T. (2004). *Fundamentals of Cheese Science* – 3rd edition. Elsevier, Madison.

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. (2017). *Fundamentals of cheese science*. New York: Springer US.

Fox, P.; McSweeney, P.; Cogan, T.; Guinee, T. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*, Aspen Publishers, USA.

Franco, B. D. G. M.; Landgraff, M. (2005). *Microbiologia de Alimentos*. São Paulo: Atheneu.

Freitas, A. C., Macedo, A. C., & Malcata, F. X. (2000). Technological and organoleptic issues pertaining to cheeses with denomination of origin manufactured in the Iberian Peninsula from ovine and caprine milks Revisión: Aspectos tecnológicos y sensoriales de quesos con denominación de origen elaborados en la Península Ibérica con leche de oveja y de cabra. *Food Science and Technology International*, 6(5), 351-370.

Ganz, K., Yamamoto, E., Hardie, K., Hum, C., Hussein, H., Locas, A., & Steele, M. (2020). Microbial safety of cheese in Canada. *International journal of food microbiology*, 321, 108521.

Garg, S. K., & Johri, B. N. (1994). Rennet: current trends and future research. *Food Reviews International*, 10(3), 313-355.

Gérard, A., El-Hajjaji, S., Niyonzima, E., Daube, G., & Sindic, M. (2018). Prevalence and survival of *Listeria monocytogenes* in various types of cheese—A review. *International Journal of Dairy Technology*, 71(4), 825-843.

Germano, P. M. L.; Germano, M. I. S. (2001). *Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos*. 2^a ed. São Paulo: Varela.

Guiné, R. P., Tenreiro, M. I., Correia, A. C., Correia, P. M., & Barracosa, P. (2016). Analysis of factors influencing the physical, chemical and sensorial properties of Serra da Estrela cheeses. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10(3), 643-657.

Guterres, P. C. M. (2014). *Caracterização do queijo de mistura com adição de orégãos* (Doctoral dissertation).

Guterres, P., 2013. *Caracterização do Queijo de Mistura com Adição de Orégãos*. Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior Agrária.

Holzappel, W. H.; Haberer, P.; Geisen, R.; Björkroth, J.; Schillinger, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr.*; 73(2), 365S-

373. Acedido em Jul. 7, 2012, disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016816050000413X>.

Huong, B. T., Mahmud, Z. H., Neogi, S. B., Kassu, A., Nhien, N. V., Mohammad, A., Yamato, M., Ota, F., Lam, N. T., Dao, H. T. & Khan, N. C. (2009). Toxigenicity and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* isolated from Vietnamese ready-to-eat foods. *Food Control*, 21, 166-171.

Jacopini, L. A., Martins, E. N., Lourenço, D. A. L., & dos Santos Deróide, C. A. (2011). REVISÃO BIBLIOGRÁFICA LEITE DE CABRA: CARACTERÍSTICAS E QUALIDADES. *Acta Tecnológica*, 6(1), 168-180.

Jannesar, M., Shoushtari, M. S., Majd, A., & Pourpak, Z. (2017). Bee pollen flavonoids as a therapeutic agent in allergic and immunological disorders. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, 16(3), 171-182.

Jarvis, J. K., & Miller, G. D. (2002). Overcoming the barrier of lactose intolerance to reduce health disparities. *Journal of the National Medical Association*, 94(2), 55.

Karoui, R., Mouazen, A. M., Dufour, É., Pillonel, L., Schaller, E., De Baerdemaeker, J., & Bosset, J. O. (2006). Chemical characterisation of European Emmental cheeses by near infrared spectroscopy using chemometric tools. *International Dairy Journal*, 16(10), 1211-1217.

Komosinska-Vassev, K., Olczyk, P., Kaźmierczak, J., Mencner, L., & Olczyk, K. (2015). Bee pollen: chemical composition and therapeutic application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015.

Kostić, A. Ž., Milinčić, D. D., Barać, M. B., Ali Shariati, M., Tešić, Ž. L., & Pešić, M. B. (2020). The Application of Pollen as a Functional Food and Feed Ingredient—The Present and Perspectives. *Biomolecules*, 10(1), 84.

Lima, M. J., Fontes, L., & Pinto, A. (2019). Nutritional and Microbiological Composition of Serra Estrela Cheese: A Paradigm to Overcome. *International Journal of Clinical Nutrition & Dietetics*, 5

Luquet, F. M. (1985). *O leite: Do úbere à fábrica de laticínios*. Vol 1. Coleção Euroagro, Publicações Europa-América LDA, Mem-Martins.

Machado, M., 2003. *Evolução da textura e composição do queijo Serpa durante a sua maturação*. Universidade Técnica de Lisboa – Instituto Superior de Agronomia.

Madigan, M. T.; Martinko, J. M.; Paker, J. (2004). *Microbiologia de Brock*. (10^a ed.) São Paulo: Prentice Hall.

Månsson, H.L. (2008). Fatty acids in bovine milk fat. Food and Nutrition Research. vol 52. Artigo: PMC2596709. Acedido em: 15 de Julho, 2015. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2596709/>.

Markey, O., Vasilopoulou, D., Kliem, K. E., Koulman, A., Fagan, C. C., Summerhill, K., et al. (2017). Plasma phospholipid fatty acid profile confirms compliance to a novel saturated fat-reduced, monounsaturated fat-enriched dairy product intervention in adults at moderate cardiovascular risk: A randomized controlled trial. Nutrition Journal, 16, 1–33.

Marquezi, M. C., Gallo, C. R., & Dias, C. T. D. S. (2010). Comparação entre métodos para a análise de coliformes totais e E. coli em amostras de água. Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso), 69(3), 291-296.

Martins, A. P. L.; Vasconcelos, M. M.(2003/2004). A qualidade do queijo fabricado com leite cru. Efeito dos principais factores tecnológicos. Pastagens e Forragens, vol 24/25, 15-33.

McBean, L.D. & Miller G.D. (1998) Allaying fears and fallacies about lactose intolerance. J Am Diet Assoc., 98(6), pp.671-676.

Modi, R.; Hirvi, Y.; Hill, A.; Griffiths, M.W. (2001). Effect of phage on survival of Salmonella enteritidis during manufacture and storage of cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. Journal Food Protection, Ames, 64(7), 927-933.

Moreira, C. P. M. (2011). Desenvolvimento de metodologias analíticas para queijos. Estudo de caso: queijos da Beira Interior (Doctoral dissertation, ISA/UTL).

Nájera, A. L., R. Barrón, L. J. e Barcina, Y. (1993). Revisión: comparación de la fracción lipídica del queso de vaca, oveja y cabra, y la influencia sobre su calidad. Revista Española de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 334, 345-363.

Novak, F. R., & Almeida, J. A. G. D. (2002). Teste alternativo para detecção de coliformes em leite humano ordenhado. Jornal de Pediatria, 78(3), 193-196

NP 2105 (1983). Determinação do teor de matéria gorda. Técnica de Van Gulik. Processo corrente. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.

Ortega, E.; Abriouel, H.; Lucas, R.; Galvez, A. (2010). Multiple roles of Staphylococcus aureus Enterotoxins: Pathogenicity, Superantigenic Activity, and Correlation to Antibiotic Resistance. Toxins, 2: 2117-2131.

Park, Y. W., Juárez, M., Ramos, M., e Haenlein, G. F. (2007). Physicochemical characteristics of goat and sheep milk. Small Rum. Res., 68, 88-113.

Pereira, A. M. R. C. D. C. (2019). Contributo do sistema de proteção e valorização de produtos tradicionais. CASO DE ESTUDO: Proposta de qualificação da Sericaia de Elvas como IGP (Doctoral dissertation).

Pereira, E., 2012. Otimização de um processo combinado de impregnação por vácuo e calor na produção de uma compota de groselha. Universidade do Algarve, Faculdade de Ciências e Tecnologia.

Pribila, B.A., Hertzler, S.R., Martin, B.R., Weaver, C.M. & Savaiano, D.A. (2000) Improved lactosedigestion and intolerance among African-American adolescent girls fed a dairy-rich diet. *J Am Diet Assoc.*, 100(5), pp.524-528.

Rawson, A., Koidis, A., Patras, A., Tuohy, M. G., & Brunton, N. P. (2010). Modelling the effect of water immersion thermal processing on polyacetylene levels and instrumental colour of carrot disks. *Food Chemistry*, 121(1), 62-68.

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.

Renner E. (1993) Nutritional Aspects of Cheese. In: Fox P.F. (eds) *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2650-6_15

Schoeller, N. P., & Ingham, S. C. (2001). Comparison of the Baird–Parker agar and 3MTMPetriFilmTMrapid *S. aureus* count plate methods for detection and enumeration of *Staphylococcus aureus*. *Food microbiology*, 18(6), 581-587.

Tenreiro, M. I. C. (2014). Estudo das propriedades físico-químicas do queijo Serra da Estrela (Doctoral dissertation).

Tibério, M., Cristóvão, A. (2001). Produtos tradicionais e desenvolvimento local: o caso da designação protegida Queijo Terrincho DOP. In Conferencia presentada ao I Congresso de Estudos Rurais. Território, Agricultura e Desenvolvimento. Vila Real: UTAD e Sociedade Portuguesa de Estudos Rurais.

União Europeia. (2012). Agricultura e desenvolvimento rural DOOR - Lista Produtos de Origem Protegida. Acedido em Jun. 30, 2012, disponível em: <http://ec.europa.eu/agriculture/quality/door/list.html;jsessionid=pLohL%20qgLXhNmFQyFl1b24mY3t9dJQPflg3xbL2YphGT4k6zdWn34!-370879141> 54 %

Varejão, M. M. C. (2015). Otimização dos parâmetros físico-químicos e controlo microbiológico do requeijão da Beira Baixa DO (Master dissertation).

Veiga, S. N. T. D. (2012). Qualidade microbiológica e físico-química de queijos comercializados em Portugal (Master dissertation, Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária).

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.

Verruck, S., Balthazar, C. F., Rocha, R. S., Silva, R., Esmerino, E. A., Pimentel, T. C., & Prudencio, E. S. (2019). Dairy foods and positive impact on the consumer's health. *Advances in food and nutrition research*, 89, 95-164.

Vieira Dias, R. Faustino, A. R. Chiché, A. (2008). Fabrico de Queijo. Disciplina Tecnologia de Leites do curso Engenharia Alimentar. Escola Superior Agrária – Instituto Politécnico de Beja.

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

Woodcock, T., Fagan, C. C., O'Donnell, C. P., & Downey, G. (2008). Application of near and mid-infrared spectroscopy to determine cheese quality and authenticity. *Food and Bioprocess Technology*, 1(2), 117-129.

<https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/food-safety-and-quality/certification/quality-labels/quality-schemes-explained>

<https://anidop.inia.pt/index.php/racas/dop-igp-etg/dop#QUEIJO>

https://ec.europa.eu/info/food-farming-fisheries/food-safety-and-quality/certification/quality-labels/quality-schemes-explained_pt

Anexos

Anexo I – Poster

Characterization of physicochemical parameters of “Amarelo da Beira Baixa”

Characterization of physicochemical parameters of “Amarelo da Beira Baixa”

Tomás Santos¹, Mafalda Resende², António Mendonça^{1,3}, Leticia M. Estevinho⁴, Luisa Paulo² and Ofélia Anjos^{5,6,7}

¹ Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal

² CATAA – Associação Centro de Apoio Tecnológico Agro Alimentar de Castelo Branco, Portugal

³ CICS-UBI - Centro de Investigação em Ciências da Saúde, Covilhã, Portugal

⁴ CIMO - Centro de Investigação de Montanha, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal

⁵ Instituto Politécnico de Castelo Branco, Portugal

⁶ Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Portugal

⁷ Centro de Biotecnologia de Plantas da Beira Interior, Castelo Branco, Portugal

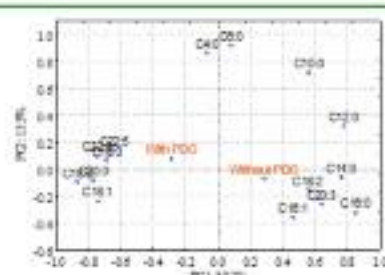
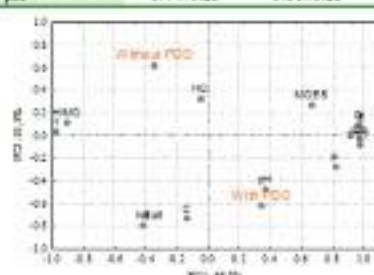
Introduction

“Amarelo da Beira Baixa” (ABB) cheese is a cured cheese, produced with raw milk from sheep’s or sheep’s and goat’s characterized by a yellow color with a Protected Designation of Origin (PDO). This work aimed to compare the physicochemical parameters for this PDO cheeses (n=34) and others, without certification (n=26).

Results and Discussion

Table 1 – mean values and padon deviations of physicochemical parameters and fatty acids for Amarelo da Beira Baixa cheese (with and without PDO certification).

| Parameter | Amarelo da Beira Baixa | | | | | | | |
|---------------|------------------------|---------------|----------------|-------------------|------------|----------------|-------------------|------------|
| | PDO Certification | | Fatty Acid (%) | PDO Certification | | Fatty Acid (%) | PDO Certification | |
| | With | Without | | With | Without | | With | Without |
| MC (%) | 42.92±4.34 | 45.48±5.48 | C14:0 | 0.45±0.14 | 0.44±0.14 | C18:0 | 15.21±1.13 | 12.92±1.27 |
| P (%) | 26.99±1.11 | 26.00±1.79 | C16:0 | 0.66±0.13 | 0.66±0.18 | C18:1 | 27.23±1.33 | 26.87±1.41 |
| L (%) | 31.23±3.67 | 29.32±3.99 | C18:0 | 1.08±0.14 | 1.00±0.35 | C18:2 | 3.06±0.29 | 3.31±0.28 |
| Aa (%) | 4.06±0.56 | 3.96±0.36 | C10:0 | 4.55±0.39 | 4.63±0.64 | C18:3 | 0.78±0.18 | 0.80±0.21 |
| DS (%) | 57.08±4.34 | 54.52±5.48 | C12:0 | 3.26±0.28 | 3.24±0.45 | C20:0 | 0.33±0.05 | 0.30±0.05 |
| MGES (%) | 54.58 ± 3.04 | 54.00 ± 2.42 | C14:0 | 9.28±0.78 | 9.24±0.82 | C20:1 | 0.18±0.04 | 0.19 ±0.05 |
| HDMG (%) | 62.27 ± 3.63 | 64.30 ± 4.63 | C15:0 | 0.89±0.08 | 0.89±0.05 | C22:0 | 0.18±0.04 | 0.15±0.05 |
| CH (%) | 0.81±0.74 | 1.94±0.82 | C16:0 | 25.38±2.27 | 26.01±2.53 | C22:1 | 0.19±0.18 | 0.17±0.05 |
| E (kcal) | 368.26±35.41 | 349.83±41.77 | C16:1 | 1.09±0.14 | 1.05±0.08 | C22:5 | 0.13±0.05 | 0.11±0.06 |
| Na (mg/100 g) | 895.66±244.57 | 873.48±230.76 | C17:0 | 0.28±0.02 | 0.27±0.04 | | | |
| S (g/100 g) | 2.34±0.61 | 2.18±0.58 | | | | | | |
| pH | 5.44±0.25 | 5.16±0.28 | | | | | | |



Only the parameters moisture content (MC)/dry extract (DS), protein (P), pH and two fatty acids (C18:2 and C20:0) present significant differences (Scheffe test with $\alpha=0.05$) for PDO cheeses compared to those without certifications.

Conclusions

This results denote a good production process of “Amarelo da Beira Baixa” cheeses and that more producer could be aggregated to the PDO.

Acknowledgements: Program for the Valorization of Cheese of Portugal’s Center Region, co-financed by the Centro 2020, Portugal 2020, and the European Union through the ERDF. Project code: CENTRO 04-3028-FEDER-000014.