



**FREDERICO TEIXEIRA CORRÊA**

**DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO  
MATURADO COM TIRAS DE ÁRVORES  
CULTIVADAS NO BRASIL**

**LAVRAS – MG**

**2014**

**FREDERICO TEIXEIRA CORRÊA**

**DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO MATURADO COM TIRAS DE  
ÁRVORES CULTIVADAS NO BRASIL**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Ciência dos  
Alimentos, área de concentração  
Tecnologia de Leite e Produtos  
Lácteos, como requisito para obtenção  
do título de Mestre.

Dra. Sandra Maria Pinto  
Orientadora

**LAVRAS – MG**

**2014**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e  
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Corrêa, Frederico Teixeira.

Desenvolvimento de queijo maturado com tiras de árvores  
cultivadas no Brasil / Frederico Teixeira Corrêa. – Lavras : UFLA,  
2014.

81 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Sandra Maria Pinto.

Bibliografia.

1. Queijo. 2. Análise físico-química. 3. Casca de árvore. 4.  
Cromatografia gasosa. 5. Análise sensorial. I. Universidade Federal  
de Lavras. II. Título.

CDD – 637.3

**FREDERICO TEIXEIRA CORRÊA**

**DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO MATURADO COM TIRAS DE  
ÁRVORES CULTIVADAS NO BRASIL**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Lavras como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Ciência dos  
Alimentos, área de concentração  
Tecnologia de Leite e Produtos  
Lácteos, como requisito para obtenção  
do título de Mestre.

APROVADA em 21 de fevereiro de 2014

Dra. Sandra Maria Pinto	UFLA
Dr. Fernando Antônio Resplande Magalhães	EPAMIG
Dr. João de Deus Souza Carneiro	UFLA
Dr. Fábio Akira Mori	UFLA
Dr. Luiz Ronaldo de Abreu	UFLA

Dra. Sandra Maria Pinto  
Orientadora

**LAVRAS – MG**

**2014**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e à CAPES por possibilitar a realização da pesquisa e pelos conhecimentos passados.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, pela oportunidade de realização da pesquisa e outros trabalhos.

À Empresa Vigor pela contribuição com materiais de pesquisa.

Aos meus orientadores Sandra e Luiz Ronaldo, pelo aprendizado, pela orientação e pela confiança.

Aos meus pais, por toda lição, força e sabedoria.

À Quélen que tanto me ajudou, me incentivou e esteve sempre ao meu lado.

Ao Tales, pelas ideias e contribuição com a pesquisa.

Aos professores Fábio Akira, Luiz Carlos, João de Deus, Cleiton, Eduardo Valério, Elisângela, Lidiany e Roberta, pela orientação e contribuição com a pesquisa.

À Cleusa, por toda ajuda, orientação, contribuição com os trabalhos e conhecimentos repassados.

À Patrícia, Serjão, Henrique Cazedey, Marcel, Adriano e os outros colegas de laboratório, pelo companheirismo e ajuda nos trabalhos.

A todos os meus colegas de disciplina e de departamento, pelos bons momentos.

Aos meus colegas do curso de Zootecnia, que tanta força me deram para eu chegar até aqui.

Aos colegas de escola, que contribuíram com o meu aprendizado, momentos de descontração e companheirismo.

À minha avó, Conceição e meu avô, Luiz, por tanta alegria e aprendizado que me passaram.

Aos meus primos, pelos momentos de descontração, companhia e diversão.

A todos meus professores do Instituto Presbiteriano Gammon, por todo ensinamento momentos de descontração e lições .

## RESUMO

Queijos são alimentos de produção mundial, apresentando diversos tipos e tecnologias de fabricação. O emprego de tecnologias para melhora do aroma, odor e aparência pode agregar valor ao produto, acrescentando pouco ao custo de produção. Objetivou-se, no presente trabalho avaliar o efeito da maturação de queijos em contato com tiras de caule de árvores cultivadas no Brasil. Os tratamentos consistiram de três maturações compostas por tiras de *Eucalyptus grandis*, *Pinus elliotii*, *Cupressus lusitanica* e um tratamento testemunha que foi caracterizado pelo envolvimento dos queijos por uma tira de plástico politereftalato de etileno. Nesses tratamentos mencionados, foram avaliados parâmetros nutricionais, microbiológicos, sensoriais e de prospecção química. Não foram observadas diferenças significativas entre tratamentos na composição centesimal, pH e na extensão e profundidade da maturação. Nas análises microbiológicas, não houve desenvolvimento de microrganismos patogênicos em nenhum dos tratamentos. Nos parâmetros obtidos na análise de prospecção química, houve incorporação de elementos voláteis (destacando-se 4,88 de  $\alpha$ -pineno e 2,37 de limoneno nos queijos maturados com tira de *Cupressus lusitanica*; 4,20% de  $\alpha$ -pineno, 3,50% de limoneno e 3,13% de  $\beta$ -pineno nos queijos maturados com tira de *Pinus elliotii*), na porção externa dos queijos envolvidos com a tira das árvores. No teste de aceitação, todos os tratamentos foram significativamente diferentes entre si nas características avaliadas, exceto a consistência. Segundo o mesmo teste, os queijos maturados com tiras de *Eucalyptus grandis* e *Cupressus lusitanica* foram os mais aceitos no quesito sabor. *Cupressus lusitanica* e *Pinus elliotii* foram os mais aceitos no quesito odor. No parâmetro aparência, 92,6% dos provadores mostraram preferência pela presença da tira de árvore, em detrimento dos queijos ausentes das tiras de árvores.

Palavras-chave: Queijo. Análise Físico-Química. Casca de árvore. Cromatografia gasosa. Análise sensorial

## ABSTRACT

Cheeses are foods of global production presenting many types and different manufacturing technologies. The use of technologies to improve aroma, odor and appearance can add value to the product without bringing too many extra production costs. This work aimed at evaluating the effect of maturation of cheeses in contact with bands of tree stems cultivated in Brazil. The treatments consisted of three maturations composed by bands of *Eucalyptus grandis*, *Pinus elliottii*, *Cupressus lusitanica* and a control treatment that was characterized by involving the cheeses with a stripe of plastic (Ethylene polyterephthalate) In these treatments, it was evaluated nutritional, microbiological, sensorial parameters, in addition to features of chemical prospection. There were no significant differences among the treatments for the centesimal composition, pH and at the extension and depth of maturation. In the microbiological analyses there was no growth of pathogenic microorganisms in any treatment. As for the parameters obtained in the analysis of chemical prospection, there was the addition of volatile elements (mainly, 4.88% of  $\alpha$ -pinene and 2.37% of limonene in cheeses ripened with *Cupressus lusitanica*; 4.20% of  $\alpha$ -pinene, 3.50% of limonene and 3.13% of  $\beta$ -pinene in cheeses ripened with *Pinus elliottii*) to the outer parts of cheeses involved with tree bands. Regarding acceptance, all treatments were significantly different, as for the characteristics evaluated, except for consistence. According to the same test, the cheeses ripened with stripes of *Eucalyptus grandis* and *Cupressus lusitanica* were the most accepted ones, when it comes to taste. *Cupressus lusitanica* and *Pinus elliottii* were the most accepted ones, regarding odor. As for appearance, 92.6% of the tasters preferred those chesses with tree stripes over the ones without tree stripes.

Keywords: Cheese. Physical-Chemical analysis. Bark. Gas Chromatography. Sensory analysis.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fluxograma da fabricação do queijo.....	31
Figura 2	Dimensões das tiras de casca de caule (correspondente ao floema vivo) utilizadas para envolver a superfície lateral dos queijos.....	33
Figura 3	Retirada da casca de caule no eucalipto.....	33
Figura 4	Retirada da casca de caule no cipreste.....	34
Figura 5	Retirada da casca de caule no pinheiro.....	34
Figura 6	Representação esquemática do queijo envolto com a tira de casca, suas dimensões e a retirada da amostra para análise sensorial.....	36
Figura 7	Representação da retirada das camadas dos queijos para as análises de cromatografia gasosa.....	40
Figura 8	Ficha correspondente ao teste de aceitação para cada tratamento com nota de 1 a 9 e os atributos entre parênteses.....	43
Figura 9	Ficha correspondente ao teste de intenção de compra com nota de 1 a 5.....	44
Figura 10	Gráfico da preferência pela presença ou não pela madeira em % em relação a todos os voluntários participantes da pesquisa.....	62
Figura 11	Gráfico dos teores de compostos em % de área, para os diferentes tratamentos.....	69

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Composição centesimal média dos três lotes do leite utilizados na produção dos queijos, com valores expressos em porcentagem (%) da matéria natural. ....	46
Tabela 2	Avaliação de padrões enzimáticos e físico-químicos dos três lotes de leite utilizados na produção dos queijos.....	48
Tabela 3	Análises físico-químicas dos queijos nos quatro tratamentos (n=36) .....	50
Tabela 4	Avaliação microbiológica realizada em queijos nos diferentes tratamentos. ....	53
Tabela 5	Médias do teste de aceitação, submetidas ao teste de Tukey para cada tratamento.....	56
Tabela 6	Frequência em porcentagem de atributos percebidos na característica odor.....	59
Tabela 7	Frequência em porcentagem de atributos percebidos na característica sabor.....	60
Tabela 8	Frequência em porcentagem de atributos percebidos na característica consistência.....	61
Tabela 9	Compostos presentes na madeira de cipreste, tempo de retenção em minutos e área normalizada dos picos em porcentagem.....	63
Tabela 10	Compostos presentes na madeira de pinheiro, tempo de retenção em minutos e área normalizada dos picos em porcentagem.....	64
Tabela 11	Compostos presentes na madeira de eucalipto, tempo de retenção em minutos e área normalizada dos picos em porcentagem.....	65
Tabela 12	Porcentagem de área dos compostos identificados, tempo de retenção em minutos em cromatografia gasosa para cada tratamento.....	67

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1 História dos queijos.....	13
2.2 Processo de maturação do queijo.....	14
2.3 Formação da casca.....	15
2.4 Perfil aromático.....	16
2.5 Princípios da cromatografia gasosa.....	20
2.6 Química da madeira e da casca de caule.....	24
2.7 Análise sensorial.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1 Época e local de realização da pesquisa.....	30
3.2 Processo de fabricação dos queijos.....	30
3.3 Tratamentos.....	32
3.3.1 Tiras das cascas do caule das árvores.....	35
3.4 Amostragem dos queijos utilizada nas análises.....	36
3.5 Análises microbiológicas.....	36
3.5.1 Preparo das amostras.....	36
3.5.2 Coliformes totais e termotolerantes.....	37
3.5.3 Pesquisa de <i>Salmonella sp.</i> ....	37
3.5.4 Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i> .....	37
3.6 Análises físico-química.....	38
3.6.1 Leite.....	38
3.6.2 Queijos.....	38
3.7 Análises de cromatografia gasosa.....	39
3.8 Análise sensorial.....	42
3.9 Análise estatística dos resultados experimentais.....	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
4.1 Análises físico-químicas.....	46
4.1.1 Leite.....	46
4.1.2 Queijos.....	49
4.2 Análises microbiológicas dos queijos.....	53
4.3 Análise sensorial.....	55
4.3.1 Teste de aceitação.....	55
4.3.2 Análise dos atributos.....	58
4.4 Análise do perfil aromático por cromatografia gasosa.....	62
5 CONCLUSÃO.....	72
6 REFERÊNCIAS.....	73

## 1 INTRODUÇÃO

A indústria brasileira de produtos lácteos tem vivenciado grande crescimento no uso da tecnologia e inovação para oferecer produtos de qualidade, alto valor agregado e o menor custo de produção. Na indústria de derivados lácteos, destaca-se a produção de queijos. O queijo é um produto que apresenta grande diversidade de tipos, formas de produção e ingredientes utilizados. O emprego de tecnologias para melhora do aroma, odor e aparência podem elevar o valor de venda do produto, acrescentando pouco ao custo de produção.

O uso de madeira e cascas de árvores pode trazer melhora da qualidade sensorial a produtos alimentícios. Cachaças podem incorporar aroma e sabor discretos, resultantes do envelhecimento em barris de madeira de diferentes espécies de árvores. A qualidade da aguardente envelhecida depende de vários fatores, como o tipo de madeira empregada, o tempo de envelhecimento e a qualidade inicial do destilado. As madeiras transferem substâncias existentes em sua estrutura à bebida, trazendo alteração do sabor, odor e cor. O queijo Vecherin Mont D'or de origem suíça, é maturado em contato com tira de madeira de uma espécie de conífera denominada *Picea abies* e apresenta alto valor agregado. Seu principal atributo é a incorporação de aroma e sabor oriundos da madeira. Dita incorporação, eleva a qualidade sensorial e o seu valor agregado.

O Brasil é conhecido pela diversidade de árvores, que guardam atributos únicos em relação a outras regiões devido às características do solo e do clima predominantemente tropical. Muitas dessas árvores possuem potencial nutracêutico e condimentar, que podem ser aproveitados para a produção de alimentos. Os gêneros *Pinus* e *Eucalyptus* são os mais cultivados no Brasil por empresas produtoras de celulose e papel, sendo assim, a matéria-prima para produção é abundante e economicamente viável aos fabricantes. De acordo com

a Associação Brasileira de Celulose e Papel, BRACELPA (2011), os gêneros *Pinus* e *Eucalipto* corresponderam a 18,4 e 81,2% do total de indivíduos nas florestas cultivadas em 2010. No mesmo ano, o total de hectares plantados foi de 1,783 milhão para o eucalipto e 400 mil para pinheiro. As cascas dos troncos das árvores não são aproveitadas, gerando resíduos de pouco valor e que podem ser utilizadas na incorporação de odor, aroma e sabor ao queijo.

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Queijo, ABIQ (2013), a produção de queijos de leite de vaca integral no Brasil de aproximadamente 800 mil toneladas em 2011, pode ser considerada muito baixa comparando-se com outros países. A produção de queijos de leite de vaca segundo a Food and Agriculture Organization, FAO (2013) no mesmo período em países como Estados Unidos da América (4,8 milhões de toneladas), Alemanha (1,3 milhão), França (1,8 milhão) e Itália (1 milhão), foi muito superior indicando que, no Brasil existe grande potencial para crescimento.

A matéria-prima para produção de produtos lácteos não é um fator limitante no Brasil. No ano de 2011, o Brasil ocupou a 4ª posição no ranking mundial de produção de leite fluído (32,1 milhões de toneladas) sendo Estados Unidos (89 milhões), Índia (52,5 milhões) e China (36,9 milhões) os maiores produtores no mesmo período (FAO, 2013).

O potencial de aproveitamento de árvores cultivadas no Brasil, com o intuito de incorporar aroma e odor em queijos, poderá trazer benefícios também à saúde através da incorporação de substâncias medicinais. Tendo em vista os elementos expostos, na presente pesquisa, objetivou-se estudar e avaliar parâmetros físico-químicos, microbiológicos, sensoriais e de caracterização química, de queijo maturado em contato com tiras de casca do tronco das espécies *Eucalyptus grandis* (eucalipto), *Pinus elliottii* (pinheiro) e *Cupressus lusitanica* (cipreste). Todas essas árvores são de exploração comercial, legalmente cultivadas para extração da madeira e substâncias.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 História dos queijos**

Entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (BRASIL, 1996). O queijo é um dos mais antigos alimentos processados registrados pela história da humanidade. Acredita-se que tenha sido originado na região entre os rios Tigre e Eufrates, no Iraque, há aproximadamente 8.000 anos, época de início da domesticação dos animais (FOX, 1993).

Os queijos fortaleceram muito a economia das civilizações. Historicamente, esse alimento permitiu a sobrevivência de populações em períodos de crise e forneceram nutrientes vitais à boa saúde, tornando-se alimento desejável na dieta humana (KOSIKOWSKY, 1970).

Na antiguidade clássica, Grécia e Império Romano testemunharam a produção de queijos. A produção de queijo fresco em Roma era feita pela adição do coagulante, extraído do estômago de pequenos ruminantes ao leite. Do leite coagulado era feita a retirada do soro e deixado endurecer ao sol. Atribui-se, então, à Roma a consolidação da produção de queijos, segundo normas de qualidade e técnicas de produção, o que garantiu ao produto fama de alimento nobre (KOSIKOWSKY, 1970).

Durante a Idade Média, a Igreja Católica começou a participar mais ativamente na economia da Europa Ocidental, principalmente com a produção

de queijos realizada em mosteiros. Os monges introduziram inovações na fabricação do produto, sendo responsáveis pelo desenvolvimento de muitos tipos de queijos comercializados hoje em dia (KOSIKOWSKY, 1970). Mais de 1.000 variedades de queijos são produzidas atualmente no mundo, com uma produção que excede a dezenas de milhões de toneladas.

## **2.2 Processo de maturação do queijo**

De acordo com Barros et al. (2011), a maturação consiste em uma série de processos físicos, bioquímicos e microbiológicos que ocorrem em todos os queijos, exceto aqueles que são consumidos frescos. Esses processos alteram a composição química dos queijos, principalmente no que tange a seu conteúdo em açúcares, proteínas e lipídeos. O tempo de maturação varia para cada tipo e é nesse processo que se desenvolvem as características organolépticas e de textura, específicos para cada tipo de queijo. A maturação dos queijos é feita, na maioria dos casos, em câmaras com controle de temperatura e umidade (quando os queijos são maturados fora da embalagem). Tradicionalmente, o índice de maturação é medido pela degradação de caseína, através da avaliação da proporção entre nitrogênio total e nitrogênio solúvel, assim denominado o nitrogênio oriundo de matéria orgânica. Esse índice deve aumentar com o avanço da maturação.

Apesar de muitos queijos serem consumidos frescos, existem outros que são curados durante um período compreendido entre três semanas a dois anos. Geralmente, a duração do período de maturação é inversamente proporcional ao teor de umidade do queijo (FOX et al., 2000). Existem queijos que podem ser consumidos em qualquer um dos diferentes estágios de maturação, de acordo com as preferências de sabor dos consumidores bem como o preço do produto final. As mudanças que ocorrem durante a maturação e que influenciam a

formação do sabor, aroma e textura, são determinadas pelo processo de fabricação, isso é, pela composição (umidade, NaCl e pH), pelo nível de atividade coagulante e pelo início do processo de maturação (FOX et al., 2000; 2004). Nessa etapa, o queijo é sujeito a um conjunto de transformações com origem em processos microbiológicos, físicos e bioquímicos. Essas transformações afetam a lactose, a proteína e a gordura, permitindo o desenvolvimento do sabor e da textura. O grau e a velocidade da fermentação da lactose são controlados para regular o crescimento e atividade das bactérias lácticas. O grau de decomposição da caseína também afeta a qualidade do queijo, particularmente, a sua consistência e sabor (FOX et al., 2000).

As principais alterações bioquímicas envolvem a proteólise, a glicólise e a lipólise. No entanto, podem ocorrer outras reações como o catabolismo de compostos produzidos nas reações principais, que incluem a desaminação, a descarboxilação e a defosforilação de aminoácidos ou ainda, reações de esterificação (FOX et al., 2000). Durante a maturação do queijo, as reações físicas, químicas e microbiológicas, bem como, os processos enzimáticos, conferem características de textura e flavour bastante particulares. Os compostos voláteis do flavour constituem um dos critérios mais importantes da qualidade do queijo para a aceitação do consumidor (FOX et al., 2000).

### **2.3 Formação da casca**

De acordo com Gusso (2009), a formação da casca é um processo físico-químico que ocorre na superfície do queijo e possui participação da água e do sal (processo de sinérese). A casca do queijo faz o papel de membrana semipermeável que permitirá a migração do sal para o interior do queijo pelo fenômeno de difusão, ao mesmo tempo que permitirá a saída de soro do queijo com seus elementos solúveis, principalmente ácido láctico, lactose e NNP (nitrogênio não protéico).



Dois fatores são extremamente importantes na definição da casca e no acabamento final: umidade relativa do ar e temperatura. Esses fatores contribuem no sucesso da maturação de queijos com casca e devem ser ajustados conforme o tipo elaborado. Salmouras com baixo teor de sal provocam absorção de água maior que a normal e dão origem à casca mais úmida, em decorrência de proteólise acentuada na sua superfície.

Para alguns queijos é necessária a maturação em ambiente de umidade mais elevada (principalmente os queijos mofados – 90 a 95%). Outros, a umidade deve ser rigorosamente controlada justamente para que não ocorra a proliferação de mofo e leveduras (parmesão, por exemplo). Portanto, o ajuste da umidade deve ser feito em função do tipo e tecnologia empregada a fim de evitar defeitos como a proliferação de fungos e leveduras, ressecamento e surgimento de trincas, entre outros problemas.

#### **2.4 Características dos compostos aromáticos dos queijos**

Nos laticínios, as transformações químicas de compostos e a libertação de metabolitos microbianos contribuem para o aroma, aparência e textura. A lactose, o citrato, a gordura do leite e as proteínas são convertidas numa ampla gama de compostos voláteis e não voláteis (SINGH; DRAKE; CADWALLADER, 2003). O consumo de laticínios está fortemente relacionado com a estimulação dos sentidos humanos, como o odor, aroma e o sabor. No entanto, a classificação dos compostos, com base na sua polaridade e/ou volatilidade, não é simples, devido à sua complexidade. Para o consumidor, o aroma é desencadeado por misturas de moléculas voláteis altamente complexas, principalmente hidrofóbicas e, geralmente, ocorrem em concentrações ao nível de partes por milhão e até partes por bilhão (FUQUAY; FOX; MCSWEENEY, 2011).

O sabor do queijo está concentrado na fração solúvel em água (peptídeos, aminoácidos, ácidos orgânicos, aminas, NaCl), enquanto o odor e o aroma estão concentrados, principalmente na fração volátil (FOX; MCSWEENEY, 1998). Como já foi referido, o aroma do queijo pode ser formado por três vias: a proteólise, a lipólise e a glicólise. Esses processos podem dar origem a determinados compostos do sabor, podendo ocorrer outras reações que produzem um número ainda maior de componentes de baixo peso molecular que são essenciais para o aroma característico do queijo. O flavour é composto por uma mistura de componentes provenientes dessas reações (SINGH; DRAKE; CADWALLADER, 2003). Geralmente, os aromas derivam da lactose ou citrato (glicólise), bem como, do ácido láctico, acetaldeído e butano-2,3-diona, que são produzidos pela microbiota láctica. Os lípidos são outra fonte de uma ampla gama de aromas, por meio da lipólise ou pela oxidação, que são propensos a causar rancidez hidrolítica e oxidativa, respectivamente (SINGH; DRAKE; CADWALLADER, 2003).

Os compostos que formam o sabor do leite vão originar outros sabores nos seus derivados, por via da fermentação de lactose e conversão de citrato, da degradação de proteínas ou catabolismo de aminoácidos ou, ainda, pela degradação de lípidos. Os laticínios fermentados apresentam uma variedade de perfis específicos complexos para formação do flavour que pertencem a diferentes classes químicas, tais como, álcoois, aldeídos, cetonas, ésteres, lactonas, furanos, compostos contendo nitrogênio, como também, pirazinas e compostos contendo enxofre, terpenos e seus derivados, compostos aromáticos e ácidos graxos livres (AGL) (HUGENHOLTZ, 1993; SINGH; DRAKE; CADWALLADER, 2003; NOLLET; TOLDRÁ, 2010). A formação do flavour, durante a fabricação do queijo, inicia-se, imediatamente após a adição de culturas starter ao leite. As bactérias lácticas fermentam a lactose em ácido láctico e esse é o principal aroma de vários queijos. Inicialmente, a lactose é

hidrolisada produzindo glucose e galactose. O composto intermédio piruvato também pode ser convertido em diversos compostos de aroma de cadeia curta, como o diacetil, acetona, acetaldeído, etanol e acetato (HUGENHOLTZ, 1993; NOLLET; TOLDRÁ, 2010; FUQUAY; FOX; MCSWEENEY, 2011). Outros microrganismos, como os heterofermentativos, apresentam a capacidade de fermentar substratos não carbonatados, tais como o citrato, produção de etanol a partir do acetaldeído, 1,2 – butanodiol e diacetil, produzindo um sabor mais amargo (HUGENHOLTZ, 1993; NOLLET; TOLDRÁ, 2010).

Os microrganismos não starter também fermentam a lactose, produzindo uma variedade de compostos, como o ácido fórmico, dióxido de carbono e hidrogênio. A fermentação butírica origina o 1-butanol, o ácido butírico, a acetona, o 2-propanol e o dióxido de carbono; na fermentação alcoólica forma-se o etanol e o dióxido de carbono (HUGENHOLTZ, 1993; NOLLET; TOLDRÁ, 2010). As matérias-primas importantes para a formação do aroma do queijo incluem os compostos de baixo peso molecular, como o citrato e lactose, mas também as proteínas de alto peso molecular, a partir das quais muitos compostos do flavour são originários (FOX et al., 2000; NOLLET; TOLDRÁ, 2010). O processo proteolítico é iniciado pela conversão de caseína de grandes peptídeos por proteases.

As bactérias lácticas produzem peptidases, capazes de degradar os grandes péptidos em oligopéptidos menores e aminoácidos, que contribuem para o sabor doce. Além disso, a conversão dos aminoácidos desencadeia a formação de compostos do flavour, resultando em vários álcoois, aldeídos, ácidos, ésteres, aminas e composto de enxofre (FOX et al., 2004; SINGH; DRAKE; CADWALLADER, 2003; NOLLET; TOLDRÁ, 2010). Estudos realizados sobre os compostos responsáveis pelo aroma característico dos queijos demonstraram que a degradação de aminoácidos é um processo importante para a sua formação. Os aminoácidos de cadeia ramificada (leucina, isoleucina e valina), os

aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina e triptofano) e a metionina são os precursores principais desses compostos do aroma. Assim, a monitorização da degradação dos aminoácidos, durante a maturação, permite o controle da formação do flavour (SINGH; DRAKE; CADWALLADER, 2003; NOLLET; TOLDRÁ, 2010).

Os ácidos graxos provenientes dos aminoácidos de cadeia ramificada, contribuem para os aromas de ranço, fecal, pútrido e semelhantes a ésteres. A conversão dos aldeídos produz álcoois, nomeadamente, o 3-metilbutanol, 2-metilbutanol e 2-metilpropanol, responsáveis por aromas alcoólicos e frutados. A influência desses aromas depende da proporção e concentração dos respectivos compostos na matriz (NOLLET; TOLDRÁ, 2010). A degradação de aminoácidos aromáticos origina compostos responsáveis pelo aroma intenso de diferentes queijos. Esses compostos são o benzaldeído (odor semelhante a amêndoas amargas); fenilacetaldéido (floral, rosa, violeta); o feniletanol (floral, violeta, odor a rosas); acetato de fenil (aroma de mel) e o fenilpropanoato (floral). Os aromas desagradáveis são, essencialmente, provenientes do indol, responsável por aromas a podre, fecais e a mofo (WALLACE; FOX, 1997; NOLLET; TOLDRÁ, 2010).

Os ácidos graxos livres são compostos que contribuem para o aroma por si só, mas também são precursores de reações catabólicas, produzindo outros compostos aromáticos, tais como, metilcetonas, ésteres e tioésteres, lactonas, aldeídos e álcoois secundários. Do catabolismo dos AGL, as metilcetonas são os compostos mais importantes para muitas variedades de queijos (SINGH; DRAKE; CADWALLADER, 2003; NOLLET; TOLDRÁ, 2010; FUQUAY; FOX; MCSWEENEY, 2011). Os ésteres são produtos do catabolismo de ácidos graxos e são formados por reações entre ácidos graxos de cadeias curta e média com álcoois provenientes da fermentação da lactose ou do catabolismo de aminoácidos (FOX et al., 2000; 2004; NOLLET; TOLDRÁ, 2010). As lactonas

estão naturalmente presentes nos queijos, apesar de não serem consideradas de grande relevância para o seu aroma. Os aldeídos também estão presentes em muitos queijos, especialmente o n-nonanal. São, também, considerados compostos transitórios, que rapidamente se reduzem para oxidar álcoois primários ou ácidos correspondentes (NOLLET; TOLDRÁ, 2010; FUQUAY; FOX; MCSWEENEY, 2011).

O aroma característico de um queijo é definido pelo equilíbrio dos componentes, sendo controlado por uma ampla gama de parâmetros, nomeadamente, a idade do queijo, a microbiota e a reações bioquímicas (FOX et al., 2000; 2004; NOLLET; TOLDRÁ, 2010). Alguns estudos realizados mostram que, para identificar e/ou quantificar esses compostos voláteis, o método adequado é a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa. O isolamento de compostos, a partir da matriz do queijo é feito por headspace – microextração em fase sólida (HS – SPME), uma vez que, em comparação com outras técnicas, essa é isenta de solventes, tem um tempo de preparação de amostra reduzido, apresenta alta sensibilidade e um risco limitado de artefatos. Os analitos da amostra são, assim, extraídos diretamente da matriz e concentram-se numa fibra revestida de sílica que os adsorve (PINHO; PÉRÈS; FERREIRA, 2003; FRANK; OWEN; PATTERSON, 2004; FERREIRA; PINHO; SAMPAIO, 2009).

## **2.5 Cromatografia gasosa**

As substâncias voláteis ou semivoláteis são preferencialmente analisadas por cromatografia gasosa, devido ao grande poder de separação dessa técnica, sendo capaz de separar compostos orgânicos com isomeria plana similar, isomeria óptica e homólogos com grande pureza (VILEGAS, 1997). A cromatografia gasosa é um procedimento físico utilizado para se separar uma amostra em seus componentes individuais. A base para essa separação é a

distribuição da amostra entre duas fases: uma estacionária e uma fase gasosa móvel.

A cromatografia gasosa (CG) é uma análise química instrumental por separação de compostos químicos e uma amostra complexa. O tubo por onde passa os compostos ou coluna, é o dispositivo através do qual diferentes constituintes de uma amostra passam em uma corrente de gás a diferentes taxas, dependendo de várias propriedades físicas e químicas e suas interações com um específico recheio da coluna (fase estacionária). Os compostos químicos liberados no final da coluna são identificados pelo detector. A função da fase estacionária na coluna é segregar diferentes compostos, causando a saída da coluna em um tempo de retenção diferente. Outros parâmetros que podem ser usados para alterar a ordem ou tempo de retenção são a taxa de fluxo da fase móvel e a temperatura.

Em uma análise CG, um volume conhecido de analito gasoso ou líquido é injetado na entrada da coluna, geralmente com o uso de uma microseringa (ou com fibras de microextração de fase sólida). Conforme o gás carreador leva as moléculas do analito através da coluna, essa movimentação é inibida pela adsorção das moléculas do analito nas paredes da coluna ou no material do empacotamento da mesma. A taxa com que as moléculas progridem ao longo da coluna depende da força da adsorção que, por sua vez, depende do tipo de molécula e do material da fase estacionária. Uma vez que cada tipo de molécula tem uma taxa de progressão diferente, os vários componentes da mistura de analito são separados conforme são carreados pela coluna. Um detector ao final analisa o fluxo de saída da coluna. No momento em que cada componente sai da coluna, sua identificação é feita.

Sobra a amostra, a mesma é vaporizada e carreada pela fase móvel (ou gás de arraste, uma vez que se trata de um gás inerte cuja finalidade é transportar

as moléculas separadas) através da coluna onde se encontra a fase estacionária (McNAIR; MILLER, 1997). Um sistema muito utilizado para análise de amostras é o uso de um espectrômetro de massas, que funciona como detector, acoplado a um cromatógrafo a gás. Durante a queima de um composto orgânico, são formados diversos íons e como consequência, a chama resultante torna-se condutora de eletricidade. O gás de arraste saindo da coluna cromatográfica é misturado com  $H_2$  e queimado com ar ou  $O_2$ . A chama resultante fica contida entre dois eletrodos, polarizados por uma voltagem constante. Como a chama de  $H_2$  forma poucos íons, ela é um mau condutor elétrico e quase nenhuma corrente passa entre os eletrodos. Ao eluir um composto orgânico, ele é queimado e são formados íons na chama, que passa a conduzir corrente elétrica. A corrente elétrica resultante é amplificada e constitui o sinal cromatográfico (COLINS; BRAGA; BONATO, 1997).

No sistema conhecido como cromatografia gasosa acoplada com o detector de espectrômetro de massa (CG/EM), o gás de arraste emergente do cromatógrafo é transferido através de uma válvula dentro de um tubo, onde ele passa por uma fenda molecular. Uma parte do fluxo de gás é então transferida para dentro da câmara de ionização do espectrômetro de massas. Cada substância eluída da coluna cromatográfica é bombardeada com uma fonte ionizante, conseguindo fragmentar o composto em uma grande diversidade de íons, que são separados e registrados de acordo com suas razões de  $m/z$  (COLINS; BRAGA; BONATO, 1997). No sistema CG/EM, é necessário o uso de uma rápida varredura pelo espectrômetro de massas. O instrumento deve determinar o espectro de massa de cada componente na mistura, separado pela coluna cromatográfica, antes mesmo do próximo componente entrar na câmara de ionização, de maneira que uma substância não seja contaminada pela próxima fração antes que seu espectro tenha sido obtido e os dados gravados. Com um sistema CG/EM, é possível também analisar uma mistura e conduzir uma busca

em uma biblioteca de dados existente no sistema, podendo dessa maneira procurar cada componente da mistura por tentativas e comparações (INNOCENTINI, 2000).

A microextração em fase sólida (SPME), consiste de um amostrador (uma espécie de seringa) com uma fibra de sílica fundida revestida com um fino filme de um polímero ou de um sólido adsorvente (fase extratora). A SPME é baseada no equilíbrio de partição do analito entre as fases: aquosa (amostra homogênea), polimérica extratora (fibra) e gasosa. Durante a extração em um sistema trifásico, considerado ideal, os analitos migram entre as três fases até que o equilíbrio de partição seja atingido. Dessa forma, a massa extraída do analito pela fibra está relacionada ao equilíbrio de massas nas fases do sistema.

A extração pode ser realizada pela exposição da fibra (fase extratora) diretamente na amostra ou na fase gasosa (headspace). Em análises realizadas por cromatografia gasosa, o processo SPME tem sido realizado segundo o seguinte procedimento: com a fibra retraída no injetor da agulha do dispositivo SPME, o septo do frasco da amostra é perfurado e a fibra exposta à amostra (modo direto ou headspace). Após atingir o equilíbrio de partição do analito entre as fases (aquosa, polimérica e gasosa), a fibra é novamente retraída para o interior da agulha e essa é retirada do frasco. A agulha do dispositivo SPME é inserida no injetor GC adequadamente aquecido e então a fibra é exposta para dessorção térmica. Após as extrações, é recomendável vedar a agulha com septo, para evitar contaminações da fibra. Esse procedimento permite também a coleta da amostra em locais distantes e transporte do dispositivo SPME para o laboratório.

Numerosos métodos têm sido descritos para detecção dos vapores orgânicos eluídos num cromatógrafo a gás. Os principais métodos de detecção são classificados de acordo com as propriedades físicas que configuram o mecanismo de detecção. Os detectores são classificados como: universal,



seletivo e específico. Os detectores de ionização de chama e condutividade térmica respondem na presença de todos os compostos orgânicos e são portanto, considerados detectores universais. Outros detectores respondem somente na presença de um heteroátomo em particular (por exemplo, fotométrico de chama e termoiônico são considerados detectores específicos). O de captura de elétrons é considerado seletivo, pois detecta qualquer substância que apresente grupo atômico capaz de captar elétrons.

## **2.6 Química da madeira e da casca de caule**

Quimicamente, a madeira é definida como um biopolímero tridimensional, formado por celulose, hemicelulose e lignina e pequenas quantidades de extrativos e materiais inorgânicos. A substância química mais abundante numa árvore viva é a água, mas na madeira em base seca, toda a parede celular da madeira é formada por polímeros de açúcares (carboidratos, 65 a 75%), que são combinados com a lignina (18 a 35%) (ROWELL, 2005). Assim, a madeira é um material bastante heterogêneo, cuja proporção aproximada de celulose, hemicelulose e lignina é, respectivamente, 50:20:30. Os demais compostos da madeira, presentes em menor quantidade, são compostos de baixo peso molecular e são chamados de extrativos, sendo encontrados principalmente na casca, geralmente formados por terpenos, óleos essenciais, resinas, fenóis, taninos, graxas e corantes (PHILIPP; D'ALMEIDA, 1988).

A casca é um tecido composto por duas partes principais: a casca interna e a casca externa. É também através desse tecido que a seiva orgânica rica em nutrientes se transporta. A seiva orgânica é composta de carboidratos (sacarose, frutose, glicose, manitol e sorbitol), proteínas, extrativos, ácidos graxos, aminoácidos e nutrientes minerais (FOELKEL, 2010). O transporte das substâncias orgânicas e minerais é realizado pelo tecido denominado floema,

presente na casca interna (mais próximo do câmbio vascular). O tecido floemático da casca possui tanto células vivas como células mortas (FOELKEL, 2010). A composição química da casca é diversificada variando de acordo com a espécie e da casca interna ou externa. Análises químicas da casca para diferentes espécies indicam que seus compostos químicos podem ser classificados em dois grupos principais: polissacarídeos (celulose, hemicelulose e materiais pécticos); lignina e polifenóis; hidroxiácidos complexos (suberina); e os extrativos (graxas, óleos, fitoesteróis, resinas ácidas, ceras, taninos, terpenos, flobafenos e flavonóides).

Os métodos de análise de extrativos desenvolvidos para o estudo da madeira não podem ser aplicados à casca diretamente. Existem vários compostos na casca que não são encontrados na madeira, e que interferem nestes métodos de análise. As hemiceluloses presentes na casca, na maioria dos casos, são similares àquelas encontradas na madeira, com algumas variações na composição (ROWELL, 2005).

As cascas das espécies arbóreas, tais como as do eucalipto contêm inúmeros componentes químicos não estruturais. Os componentes estruturais são bastante semelhantes aos encontrados em outros materiais lignocelulósicos. Da mesma forma que na madeira, a celulose da casca é um polímero linear, que quando hidrolisada produz exclusivamente monômeros de D-glicose (KLEMM et al., 2005).

A composição química da casca possui mais compostos comparada à madeira, pois este tecido contém uma grande variedade de produtos químicos, sendo que a maioria é aproveitável. Em geral, a exploração da composição química se faz a partir dos mesmos métodos utilizados para a madeira (BROWNING, 1963). As cascas de eucalipto têm alto teor de sais minerais (cálcio, nitrogênio, fósforo, potássio e magnésio), variando de 3 a 10% do peso seco. O cálcio (Ca) é o nutriente em maior proporção, (LADEIRA, 1999). Os

altos teores de cinzas nas cascas causam sérios problemas para a indústria que utiliza essa biomassa para queima direta (FOELKEL, 2010).

Os componentes responsáveis pelo aroma geralmente se situam na categoria dos acidentais, presentes em baixas quantidades nas madeiras. De acordo com Klock et al. (2005), é conveniente diferenciar os componentes da parede celular, que são polissacarídeos e lignina, dos componentes acidentais. Os componentes acidentais são substâncias consideradas como não integrantes da parte estrutural da parede celular ou lamela média. A maioria dos componentes acidentais é facilmente solúvel em solventes orgânicos neutros ou água, e são chamados extrativos. Alguns outros tais como proteínas materiais inorgânicas e ácidos e sais orgânicos são parcialmente insolúveis nos solventes usados para remover os extrativos.

Em determinadas fases de desenvolvimento, as plantas podem conter quantidades apreciáveis de compostos voláteis ou de óleos essenciais que são responsáveis pelo seu cheiro característico; essas substâncias voláteis, juntamente com as secreções da madeira, pertencem ao grupo dos terpenos.

Os terpenos podem ser considerados como produtos da condensação de duas ou mais moléculas de isopropeno ( $C_5H_8$ ), resultando em dímeros e outros oligômeros com a fórmula elementar  $(C_{10}H_{16})_n$ . Os terpenos são divididos em monoterpenos  $C_{10}H_{16}$  ( $n=1$ ), sesquiterpenos  $C_{15}H_{24}$  ( $n=1,5$ ), diterpenos  $C_{20}H_{32}$  ( $n=2$ ), triterpenos  $C_{30}H_{48}$  ( $n=3$ ), tetraterpenos  $C_{40}H_{64}$  ( $n=4$ ) e politerpenos ( $n>4$ ). Os terpenóides incluem os poliprenos que contêm grupos característicos de vários tipos, como hidroxilos, carbonilos, carboxilos e ésteres. A oleoresina de *Pinus spp.* contém cerca de 25% de composto conhecido como terebintina ou turpentina que se constitui principalmente de monoterpenos, entre os que se destacam o  $\alpha$ -pineno e  $\beta$ -pineno (SWIFT, 2004).

A biossíntese de terpenos pode ocorrer pela via clássica do mevalonato (no citosol), ou pela via plastídica (LANGE et al., 1998) na qual a DXPS (1-

deoxi-D-xilulose-5-fosfato sintase) uma enzima da família das transcetolases, forma a unidade básica da biossíntese terpênica – IPP -a partir do piruvato e do gliceraldeído-3-fosfato. Uma vez produzido o IPP, esse composto de cinco carbonos sofre isomerização formando dimetil-alil-pirofosfato e por sucessivas adições de outras unidades hemiterpênicas (por ação de preniltransferases) e reações de ciclização - mediadas por ciclases (WAGSCHAL; SAVAGE; CROTEAU, 1991), vai gerar as unidades básicas formadoras das diferentes classes de terpenos.

*Pinus elliottii* é uma espécie de pinheiro, composto de duas variedades distintas: *Pinus elliottii* var. *elliottii* e *Pinus elliottii* var. *densa*, originária do Novo Mundo. Faz parte do grupo de espécies de pinheiros, com área de distribuição no Canadá e Estados Unidos da América.

Produtos derivados da resina de coníferas são amplamente utilizados, desde os primórdios da indústria naval, como selante nas estruturas de madeira das embarcações. Atualmente, a óleo-resina de caule de *Pinus* é utilizada como matéria-prima na fabricação de espessante de alimentos, remédios, perfumes, colas, tintas, vernizes, plásticos e até óleo combustível.

Os eucaliptos são árvores da família *Myrtaceae* cujas folhas estão cobertas de glândulas que segregam substâncias aromáticas. Muitas espécies apresentam dimorfismo foliar.

O caule do gênero *Eucalyptus* não apresenta a mesma propriedade sensorial das folhas, cujo princípio ativo inibe microrganismos e tem poder alelopático. Folhas de *Eucalyptus* são utilizadas para produção de diversos produtos antibióticos e delas se extraem óleos essenciais com diversos usos na indústria e com a vantagem de não serem tóxicos para as pessoas.

O cipreste português (*Cupressus lusitanica*) é uma espécie conífera pertencente à família *Cupressaceae*, monóica, perenifólia, resinosa e aromática, que pode atingir mais de 30m de altura e até 1 m de diâmetro, na altura do peito.

Segundo Onayade et al. (1998), os extrativos representam entre 4 e 10% da massa total da madeira seca, e o seu conteúdo varia muito entre as espécies de madeiras. Os extrativos de coníferas contêm, geralmente, todas as classes de terpenos, exceto os sesquiterpenos, que são raros. A terebintina, óleo volátil das coníferas, consiste, sobretudo de monoterpenos, sendo os mais importantes o  $\alpha$ -pineno, o  $\beta$ -pineno e o limoneno. Nos extrativos de coníferas também se encontram vários compostos fenólicos, dos quais alguns são resíduos e subprodutos da biossíntese da lignina (PHILIPP; D'ALMEIDA, 1988;).

De acordo com Gundidza et al. (2009) que, estudando os efeitos biológicos de óleo essencial extraído de folhas de *Schinus terebinthifolius*, sugerem que a ação antifúngica seja proporcionada pela alta concentração de monoterpenos. Terpenóides como mentol e mentona, são inibidores do crescimento de vários tipos de larvas (SIMÕES; SPITZER, 2003).

Não existem evidências em humanos de toxicidade e de atividade carcinogênica por ação dos terpenos. Há estudos que avaliam os seus efeitos anticancerígenos (ELSON et al., 1987). Nos Estados Unidos, a maioria deles é definida como não tóxica pelo TSCA (Toxic Substance Control Act) e o NTP (National Toxicology Program) não os lista como cancerígenos (MISSICK et al., 1993). A FDA (Food and Drug Administration) lista o d-limoneno, principal componente das misturas terpênicas como GRAS (Generally recognized as safe), liberando-o para uso na alimentação humana, por apresentar baixa ou nenhuma toxicidade.

## **2.7 Análise Sensorial**

Nos últimos anos, a indústria agroalimentar tem prestado atenção na análise sensorial, que tem se revelado como ferramenta para o controle e a

gestão da qualidade, com o intuito de avaliar a qualidade de um produto (DELLA LUCIA; MININ; CARNEIRO, 2006).

Para estudos de consumo, vários métodos podem ser utilizados no sentido de avaliar a aceitabilidade/preferência dos alimentos. Esses métodos são denominados afetivos e englobam vários tipos de testes que são direcionados ao consumidor. Dentre esses, o teste utilizando-se escala hedônica. A escala hedônica é uma escala facilmente compreendida pelos consumidores, nela, eles expressam sua aceitação pelo produto, seguindo uma escala previamente estabelecida, que varia gradativamente com base nos termos “gosta” e “desgosta” (REIS; MINIM, 2006). Essa escala é de fácil compreensão para consumidores inexperientes.

No método CATA (Check all that apply), geralmente provadores não treinados são selecionados em número acima de 50, para avaliação de determinados ou determinado produto. Os mesmos provadores têm liberdade de destacar de forma qualitativa os atributos mais importantes em sua opinião, num determinado alimento. Seu processo de análise é simples e rápido. No método Análise Descritiva Quantitativa (ADQ®), uma equipe de provadores selecionados e treinados são utilizados para identificar e quantificar os atributos sensoriais de um produto. É mais preciso que o método CATA, mas mais trabalhoso. O pesquisador deve medir as vantagens e desvantagens de cada método e inserir no contexto de seu trabalho, na tomada da melhor decisão.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Época e local de realização da pesquisa

O experimento foi desenvolvido entre os meses de maio e outubro de 2013, no Setor de Laticínios, no Laboratório de Microbiologia de Alimentos, no Laboratório de Análise Sensorial, do Departamento de Ciência dos Alimentos e Central de Análise e Prospecção Química do Departamento de Química, da Universidade Federal de Lavras. As tiras de casca de caule das espécies *Eucalyptus grandis* (eucalipto), *Pinus elliottii* (pinheiro) e *Cupressus lusitanica* (cipreste) foram coletadas de árvores na região de Lavras, Minas Gerais.

#### 3.2 Processo de fabricação dos queijos

O leite usado foi de vaca, integral, pasteurizado, padronizado a 3,20% de gordura e submetido à análises físico-químicas para comprovação da qualidade. A adição do cloreto de cálcio e sal foi feita sob agitação do leite que passou por pasteurização (BRASIL, 2011). Ao leite, foi incorporado fermento láctico (composto de cepas de *S. thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*), observando-se o volume de leite a processar, as normas de higiene para evitar contaminação e ativação da cultura láctica liofilizada.

O coalho líquido (de fabricação Chr Hansen Ind. e Com. Ltda) de poder coagulante 1:3.000/75 IMCU, foi dissolvido em água filtrada e colocado no leite a 37 °C, sob leve agitação. Após, deixou-se em repouso por, aproximadamente, duas horas até a completa coagulação.

O corte da coalhada foi realizado com liras em todos os sentidos, procurando-se obter grãos (cubos) de aproximadamente 1,5 cm de aresta, dando

repouso à coalhada durante três minutos. Após esse procedimento, deu-se início à mexedura única por 25 minutos.

O soro foi drenado da massa e a mesma levada às formas sem prensar. Após 12 horas para saída do excesso de soro, a massa foi retirada da forma para corte em cilindros. Após esse procedimento, inseriu-se a tira de casca de caule (correspondente ao floema vivo).

A maturação foi feita em câmara de maturação, em temperatura próxima de 10°C, com umidade controlada de 85 a 90%, por 21 dias. Durante a maturação foi realizada todos os dias, a viragem.

Após 21 dias, o queijo estava pronto para o consumo e armazenado em refrigeração para preservação de suas características e posterior realização de análises. O fluxograma de fabricação pode ser observado na Figura 1.

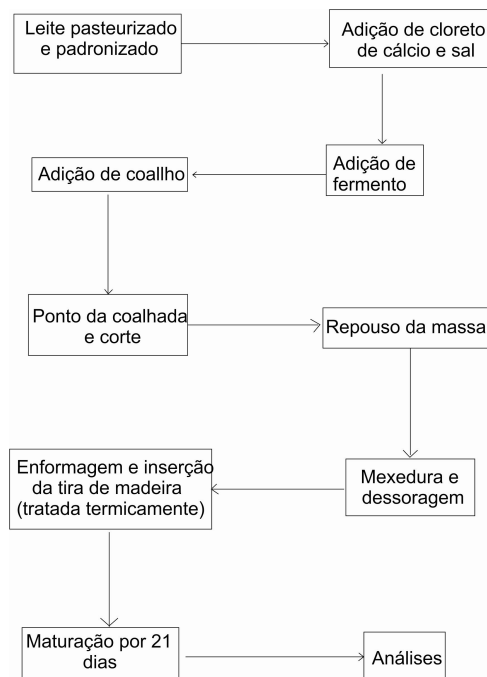


Figura 1: Fluxograma da fabricação do queijo



### 3.3 Tratamentos

Os tratamentos consistiram no envolvimento dos queijos, durante a maturação, com diferentes tipos de casca de caule (correspondente ao floema vivo) das árvores *Eucalyptus grandis* (eucalipto), *Pinus elliottii* (pinheiro) e *Cupressus lusitanica* (cipreste) mais um tratamento testemunha que se baseou no envolvimento do queijo com uma tira de plástico politereftalato de etileno (PET). A coleta das cascas dessas árvores foi realizada na região de Lavras, Minas Gerais. Os tratamentos foram designados da seguinte forma:

Tratamento 1 (T1): envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de PET (tratamento testemunha).

Tratamento 2 (T2): envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de eucalipto.

Tratamento 3 (T3): envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de pinheiro.

Tratamento 4 (T4): envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de cipreste.

#### 3.3.1 Tiras da casca do caule das árvores

As tiras de casca de caule das espécies *Eucalyptus grandis* (eucalipto), *Pinus elliottii* (pinheiro) e *Cupressus lusitanica* (cipreste) foram coletadas de árvores na região de Lavras (Minas Gerais), com cortes retangulares direto no caule, através de facão e marreta. Após a retirada dos cortes retangulares, separou-se a camada da casca que corresponde ao floema vivo (utilizada na maturação dos queijos) da camada correspondente à periderme, sendo essa camada de periderme, descartada. Após essa separação, realizaram-se os cortes do floema com tesoura, nas dimensões observadas na Figura 3.

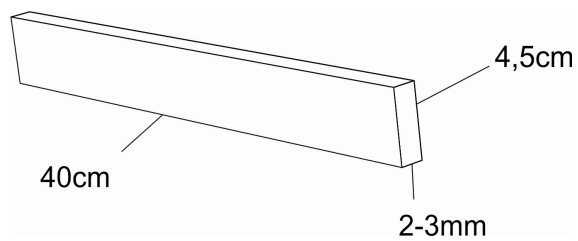


Figura 2: Dimensões das tiras de casca de caule (correspondente ao floema vivo), utilizadas para envolver a superfície lateral dos queijos.

A região onde foram retiradas as tiras de casca, correspondente ao floema, nas árvores de eucalipto, cipreste e pinus é observada na figuras 4, 5 e 6 respectivamente .



Figura 3: Retirada da casca de caule no eucalipto



Figura 4: Retirada da casca de caule no cipreste



Figura 5: Retirada da casca de caule no pinheiro

Após a retirada, as tiras foram levadas ao laboratório em sacos plásticos e armazenadas em temperatura de congelamento de -15 a -20 °C até a fabricação dos queijos. No momento de envolver as tiras de casca de caule das árvores nos queijos, elas foram descongeladas em temperatura ambiente e colocadas em 2 litros de água fervente a 100 °C, por 5 minutos, para aumentar sua flexibilidade e diminuir os microrganismos. Para manter as tiras em contato com os queijos, utilizou-se um elástico.

#### **3.4 Amostragem dos queijos utilizada nas análises**

Para as análises físico-químicas e microbiológicas, as amostras foram coletadas após trituração e uniformização do queijo de cada tratamento como um todo. Esse procedimento visou evitar possível falta de padronização da parte interna e externa do queijo, considerando que o consumidor irá consumir o queijo inteiro e não somente uma das porções.

Para a análise sensorial, utilizou-se uma porção triangular, englobando a extremidade e o centro. Na Figura 6, observa-se o arranjo da madeira nos queijos, suas dimensões padronizadas e forma de retirada da porção na análise sensorial.

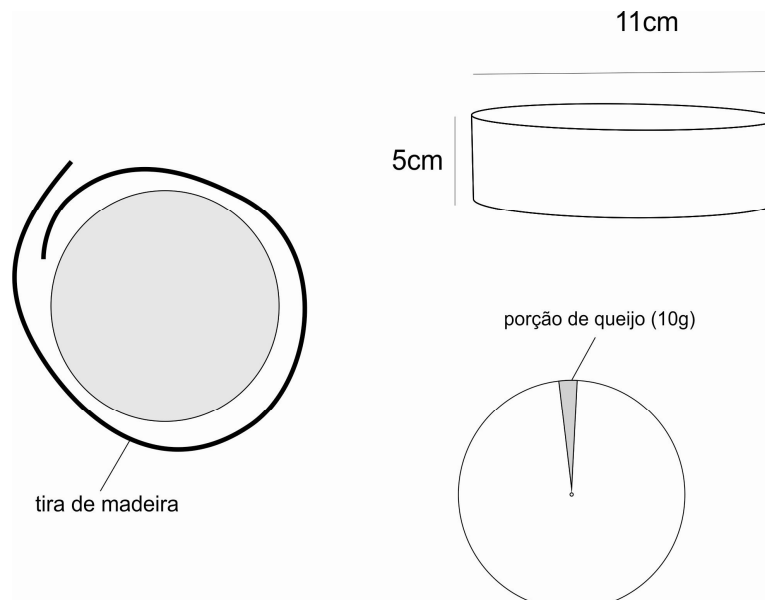


Figura 6: Representação esquemática do queijo envolto com a tira de casca, suas dimensões e a retirada da amostra para análise sensorial.

### 3.5 Análises microbiológicas

Todas as análises foram feitas segundo Silva et al. (2010) com adaptações. A qualidade microbiológica foi avaliada com relação aos parâmetros estabelecidos pela Resolução N<sup>o</sup> 12 de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2001).

#### 3.5.1 Preparo das amostras

Foram tomados, de forma homogênea, 25g do queijo e adicionados em 225g de solução de citrato de sódio a 2% (m/v). A amostra foi homogeneizada em homogeneizador tipo Stomacher (490 golpes/min, por 2 mim.). Após homogeneização foram realizadas diluições decimais em água peptonada 0,1% (m/v)

### 3.5.2 Coliformes totais e termotolerantes

Alíquotas de 1 mL das diluições adequadas da amostra foram transferidas para tubos contendo caldo lauril sulfato triptose (LST) e tubos de Durham. Foram utilizadas séries de três tubos. Os tubos foram incubados a 37 °C/48h, dos tubos positivos, aqueles com formação de gás e turvação, alíquotas foram transferidas para tubos contendo Caldo Bile Verde Brilhante (VB) e incubados a 37 °C/48h, e para tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (EC) e incubados a 45 °C/48h. Foram considerados positivos os tubos que apresentaram produção de gás e turvação.

### 3.5.3 Pesquisa de *Salmonella* sp.

O pré-enriquecimento foi realizado tomando-se 25 g de amostra que foram homogeneizadas em 225 mL água peptonada tamponada e incubada a 37°C/18h. Após esse período, alíquotas de 1 mL foram transferidas para tubos, contendo 10 mL de caldo selenito cistina (SC) e caldo Rappaport Vassiliadis (RV), os quais foram incubados a 37 °C/24h. Alíquotas de 0,1 mL de cada tubo foram transferidas para placas, contendo ágar Rambach e ágar Hecktoen, constituindo-se o crescimento diferencial. As placas foram incubadas a 37°C/24h.

### 3.5.4 Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

Amostras de 25g foram adicionadas em frasco contendo 225mL de caldo LEB (Difco), com suplemento seletivo SRE 142E e homogeneizadas em *Stomacher* (490 golpes/min. por 2 minutos). O homogenato foi incubado a 30°C por 26h e a alíquota de 0,2 mL transferida para caldo Fraser, para

enriquecimento secundário. Após incubação a 37°C/30h, alíquotas foram transferidas para placas contendo ágar Oxford e incubadas a 37°C/24h.

### **3.6 Análises físico-química**

#### **3.6.1 Leite**

O leite adquirido de produtores da região de Lavras, M.G., foram submetidos aos testes de qualidade, idoneidade e composição centesimal seguindo especificações contidas na Instrução Normativa 68 (BRASIL, 2006) e em Pereira et al. (2001) e os resultados comparados aos padrões estipulados na Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2011).

As análises de qualidade e idoneidade foram: teste do alizarol 72%, peroxidase, fosfatase alcalina, densidade, acidez titulável medida em porcentagem de ácido láctico por 100mL de leite (°D), crioscopia medida em graus Hortvet (°H), presença de formol, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, antibióticos e cloretos.

As análises de composição nutricional foram: gordura, pelo método de Gerber; umidade, pelo método gravimétrico em estufa a 102<sup>±</sup> 2 °C; teor de nitrogênio pelo método de Kjeldhal; matéria mineral realizada em mufla a 500-550 °C. Todas as análises foram realizadas em triplicata e cálculo das médias para interpretação dos resultados.

#### **3.6.2 Queijos**

Os queijos, foram submetidos, segundo a Instrução Normativa 68 (BRASIL, 2006) e Pereira et al., (2001) às seguintes análises: pH, pelo método potenciométrico em aparelho QUIMIS Q400AS®; gordura, em butirômetro, pelo método de Gerber; umidade, pelo método gravimétrico, em estufa, a 102<sup>±</sup> 2 °C até valor constante de pesagem; sal, pelo método de Volhard; cálcio, por

digestão úmida do queijo, seguida de titulação com EDTA. O teor de nitrogênio e suas frações foram realizados pelo método de Kjeldhal, sendo eles o nitrogênio total, nitrogênio solúvel (extensão da maturação) e o nitrogênio não proteico (profundidade da maturação). Os valores de nitrogênio foram multiplicados pelo fator 6,38 para obtenção dos valores equivalentes de proteína para leite e produtos lácteos. A análise de matéria mineral foi realizada em mufla a 500-550 °C. Todas as análises foram realizadas em triplicata e cálculo das médias para interpretação dos resultados.

### **3.7 Análises de cromatografia gasosa**

Para mensuração da intensidade de transferência de compostos voláteis ao queijo, retiram-se dos queijos de cada tratamento, duas camadas de 1 cm cada, da porção mais externa (CE), para a mais interna (CI). No caso da testemunha uma única porção. Após a retirada, homogeneizou-se o material correspondente a cada camada para a análise de cromatografia gasosa. Esses detalhes são observados na Figura 7.



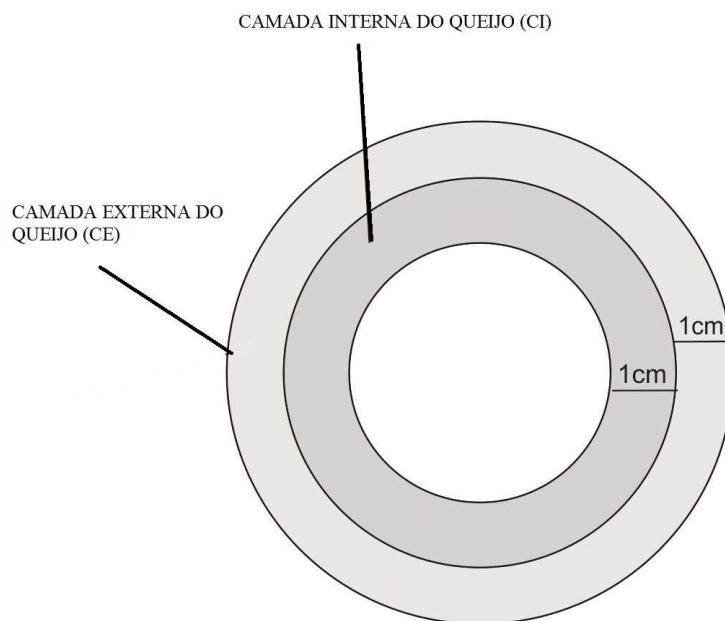


Figura 7: Representação da retirada das camadas dos queijos para as análises de cromatografia gasosa.

O experimento baseado na cromatografia gasosa englobou os mesmos quatro tratamentos mencionados anteriormente, mas com a diferença que os queijos de cada tratamento foram avaliados em camada externa de 1 cm (contato direto com a madeira) e outra camada imediatamente mais interna com 1 cm de espessura. A denominação desses tratamentos foi:

T : porção única do tratamento correspondente ao envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de PET (tratamento testemunha).

E<sub>CE</sub> : camada externa do queijo envolvido durante a maturação com tira de casca de eucalipto.

E<sub>CI</sub> : camada interna do queijo envolvido durante a maturação com tira de casca de eucalipto.

P<sub>CE</sub>: camada externa do queijo envolvido durante a maturação com tira de casca de pinheiro.

P<sub>CI</sub>: camada interna do queijo envolvido durante a maturação com tira de casca de pinheiro.

C<sub>CE</sub>: camada externa do queijo envolvido durante a maturação com tira de casca de cipreste.

C<sub>CI</sub>: camada interna do queijo envolvido durante a maturação com tira de casca de cipreste.

Inicialmente, as condições analíticas das análises cromatográficas foram padronizadas para obter a melhor separação de picos como também o maior número de picos. As análises no sistema de cromatografia gasosa acoplada com espectrômetro de massa (CG-EM), foram realizadas, mantendo-se as condições padronizadas de separação. Os extratos de compostos foram analisados em cromatógrafo gasoso marca SHIMADZU®, modelo GCMS 2010. Os compostos foram separados em coluna capilar Equility 5, apolar, 30m comprimento x 0,25mm diâmetro interno x 0,25µm espessura do filme. O gás de arraste utilizado foi o hélio, a vazão de 1,0 mL. min<sup>-1</sup>. A vazão da purga foi ajustada para fluxo de 3,0 mL.min<sup>-1</sup>. As injeções foram realizadas automaticamente por meio do amostrador Combi Pal, com o uso de injetor splitless. A temperatura inicial da coluna foi 40 °C, temperatura de injeção de 300 °C a uma taxa de elevação de 6 °C por minuto. As temperaturas do injetor e detector utilizadas foram 220 e 260°C, respectivamente.

A forma de extração foi a SPME (Micro Extração em Fase Sólida), do tipo Headspace. A fibra utilizada foi a DVB/CAR/PDMS. O condicionamento da fibra foi de 270 °C por 1 hora.

Os compostos foram identificados pela comparação de seus espectros de massas com os espectros das bibliotecas Wiley 8 e FFNSC 1.2. A abundância

relativa dos compostos foi expressa como a área percentual relativa de cada pico cromatográfico (área normalizada em %).

### **3.8 Análise sensorial**

Os queijos foram submetidos ao teste de aceitação, utilizando escala hedônica de 1 a 9, teste de intenção de compra utilizando escala de 1 a 5 e análise de atributos sensoriais, utilizando a metodologia CATA (Check All That Apply). Foram recrutados 68 provadores não treinados, com conhecimento em Ciência dos Alimentos e maiores de 18 anos, dentre alunos e funcionários da Universidade Federal de Lavras. Os provadores foram selecionados em função de consumirem queijo e com interesse em participar do teste. Os testes foram realizados em cabines individuais do Laboratório de Análise Sensorial do DCA/UFLA, sob luz branca. As amostras codificadas com três dígitos foram apresentadas em simultâneo, em copos descartáveis brancos, cortadas em pedaços triangulares. A temperatura de apresentação foi de 12 °C.

Água mineral foi servida para o consumo na avaliação entre amostras. A ordem de apresentação das amostras foi aleatória. Recorreu-se ainda aos atributos de aceitação: aparência, odor, sabor, consistência e impressão global que foram analisados com a utilização de escala estruturada de nove pontos, na qual 1 = desgostei extremamente e 9 = gostei extremamente. Para a intenção de compra foi utilizada escala estruturada de cinco pontos, na qual 1 = certamente não compraria e 5 = certamente compraria.

Para melhor compreensão dos detalhes da análise sensorial apresenta-se, na Figura 8 a ficha do teste de aceitação, com os atributos e na Figura 9, a ficha que corresponde ao teste de intenção de compra.

Para avaliação dos atributos para sabor, odor, aparência e consistência, os voluntários tiveram a opção de assinalar entre parênteses aqueles que mais

consideram apropriados de acordo com as amostras. Esses atributos foram previamente levantados por um estudo feito com 10 consumidores conforme lista disponível em Melo (1946). Os atributos para sabor, odor, aparência e consistência foram:

Sabor: agradável; ácido; adstringente; amargo; refrescante

Odor: amadeirado; floral; inodoro; refrescante; estranho.

Consistência: macia; pegajosa; cremosa; firme

Preferência pela madeira: sim ou não

Avalie a amostra e indique, utilizando **AS NOTAS** ao lado, o quanto você gostou ou desgostou da aparência, sabor, textura e impressão global. Indique com um X, nos **PARENTESES** quais os atributos **mais MARCANTES**

9 – gostei extremamente  
8 – gostei muito  
7 – gostei moderadamente  
6 – gostei ligeiramente  
5 – nem gostei/nem desgostei  
4 – desgostei ligeiramente  
3 – desgostei moderadamente  
2 – desgostei muito  
1- desgostei extremamente

Amostra nº \_\_\_\_\_

Nota Aparência: _____	Nota Sabor: _____	Nota Odor: _____	Nota Consistência: _____
Atributos Aparência	Atributos Sabor	Atributos Odor	Atributos Consist.
<input type="checkbox"/> prefiro sem a madeira <input type="checkbox"/> prefiro com a madeira	<input type="checkbox"/> agradável <input type="checkbox"/> ácido <input type="checkbox"/> adstringente <input type="checkbox"/> amargo <input type="checkbox"/> refrescante	<input type="checkbox"/> amadeirado <input type="checkbox"/> floral <input type="checkbox"/> inodoro <input type="checkbox"/> refrescante <input type="checkbox"/> estranho	<input type="checkbox"/> macia <input type="checkbox"/> pegajosa <input type="checkbox"/> firme <input type="checkbox"/> cremosa

IMPRESSÃO GLOBAL: \_\_\_\_\_

Comentários: \_\_\_\_\_

Figura 8: Ficha correspondente ao teste de aceitação para cada tratamento com nota de 1 a 9 e os atributos entre parênteses.

TESTE DE INTENÇÃO DE COMPRA

Marque a possibilidade de compra para cada uma das amostras avaliadas sensorialmente, de acordo com a escala abaixo:

NOTA	
<u>1</u>	Certamente não compraria
<u>2</u>	Provavelmente não compraria
<u>3</u>	Talvez eu compraria
<u>4</u>	Provavelmente compraria
<u>5</u>	Certamente compraria

AMOSTRA:	NOTA

Figura 9: Ficha correspondente ao teste de intenção de compra com nota de 1 a 5.

Para a avaliação dos resultados obtidos na análise dos atributos, quantificou-se a porcentagem de assinalações, em cada atributo, em relação ao total de 68 pessoas participantes da análise sensorial.

### 3.9 Análise estatística dos resultados experimentais

A montagem do experimento para a análise sensorial, microbiológica e de cromatografia gasosa foi realizada em delineamento inteiramente casualizado (DIC) e para as análises físico-químicas, foi realizada em blocos casualizados. Para a análise sensorial, coletaram-se queijos de uma única produção (feita de forma padronizada em todos os aspectos) de forma aleatória. Para a análise físico-química utilizaram-se três produções diferentes e dentro de cada produção coletaram-se três queijos para cada tratamento, de forma aleatória para realização das análises. Cada produção foi considerada um bloco diferente. Foi feita análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey (5% de significância) para as médias dos resultados significativos no teste F, ao nível de 5%. Os testes foram realizados, utilizando-se o programa computacional SISVAR (Ferreira, 2003).

A análise dos atributos sensoriais, dos resultados obtidos na cromatografia (tempo de retenção, área de picos e presença ou ausência de compostos) e análises microbiológicas tiveram seus resultados expostos de forma descritiva.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análises físico-químicas

#### 4.1.1 Leite

A composição centesimal dos alimentos indica a quantidade aproximada dos nutrientes presentes. Na Tabela 1, apresenta-se a composição centesimal, extrato seco desengordurado (ESD) e extrato seco total (EST) das amostras de leite avaliadas para produção dos queijos. Os resultados foram comparados aos padrões estabelecidos na Instrução Normativa 62 (BRASIL, 2011).

Tabela 1: Composição centesimal média dos três lotes do leite utilizados na produção dos queijos, com valores expressos em porcentagem (%) da matéria natural.

Lote	EST	Gordura	Cinzas	Proteína	Carboidratos	ESD
1	12,02	3,20	0,70	3,37	4,75	8,82
2	12,18	3,30	0,71	3,27	4,90	8,88
3	12,21	3,20	0,72	3,43	4,86	9,01

EST: Extrato seco total

ESD: Extrato seco desengordurado

A composição centesimal oferece a quantidade aproximada do teor de nutrientes nos alimentos. De acordo com a IN 62 (BRASIL, 2011), o teor mínimo de gordura e ESD para o leite pasteurizado integral são 3,0% e 8,4% respectivamente. Todas as amostras de leite avaliadas estavam com seus parâmetros nutricionais dentro desse intervalo.

Tanto o EST, quanto o ESD, fornecem informações sobre a qualidade nutricional do leite. A gordura é um nutriente de alto valor e sujeito à

manipulação por parte de quem trabalha com produção de leite e produtos lácteos. Da gordura do leite surgem produtos como a manteiga e o creme, que poderão servir como ingredientes de vários outros produtos.

O EST significa todos os nutrientes presentes menos a água. Ele fornece uma informação geral de todos os nutrientes presentes. Leite com maior teor de EST resulta em maior rendimento na fabricação de produtos lácteos.

A proteína é um nutriente de manipulação mais difícil. Fraude com o objetivo de aumentar o teor de proteína geralmente é feita com melamina e ureia. As proteínas de origem láctea são de alto valor biológico e fornecem todos os aminoácidos necessários. As proteínas do leite podem ser divididas em solúveis e caseínas. As caseínas são as principais a compor o queijo e as mesmas sofrem o processo de coagulação ácida ou enzimática.

As cinzas, que correspondem à fração mineral, são compostas predominantemente pelo cálcio e fósforo. Essa fração geralmente é constante no leite e sofre pouca variação. Quando o animal sofre algum distúrbio fisiológico, como a mastite, pode ocorrer extravasamento de minerais e líquidos da glândula para o leite, isso faz com que a fração varie.

Os carboidratos do leite são compostos principalmente pela lactose. A partir da lactose ocorre fermentação pelas bactérias lácticas que darão origem ao ácido láctico. O ácido láctico além de diminuir o pH em produtos lácteos melhorando a vida de prateleira, também proporciona sabor ao produto.

A caseína do leite sofre expressiva redução quando a CCS aumenta, devido à ação de proteases leucocitárias e sanguíneas. Por outro lado, ao mesmo tempo ocorre aumento das proteínas plasmáticas no leite em decorrência da resposta inflamatória. Dessa forma, a percentagem de proteína total no leite com elevada CCS reduz apenas 1%, em relação à concentração encontrada no leite de vacas sem mastite (HARMON, 1994).



Parâmetros de qualidade e idoneidade do leite são muito importantes na fabricação de produtos lácteos, pois a saúde do consumidor pode ser prejudicada com a adição de componentes ilegais. A Tabela 2 indica os parâmetros de qualidade e idoneidade avaliados nos lotes de leite utilizados na produção dos queijos.

Tabela 2: Avaliação de padrões enzimáticos e físico-químicos dos três lotes de leite utilizados na produção dos queijos.

Teste	Lotes		
	1	2	3
Alizarol (72%)	RSSC	RSSC	RSSC
Peroxidase	+	+	+
Fosfatase alcalina	-	-	-
Formol	-	-	-
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	-	-	-
Antibióticos	-	-	-
Cloretos	-	-	-
Acidez titulável (°D)	15	16	16
Densidade (g/mL)	1,032	1,031	1,032
Crioscopia (°H)	-0,535	-0,540	-0,530

RSSC: Rosa salmão sem coagulação

+: indica reação positiva no teste realizado

-: indica reação negativa no teste realizado

O leite é um alimento muito vulnerável à deterioração e adulteração por parte de produtores desonestos. A legislação brasileira determina que o leite deva ser isento de substâncias neutralizantes, conservantes e reconstituintes. A densidade do leite integral deve se situar entre 1,028 e 1,034g. mL<sup>-1</sup> a 15 °C. Para a crioscopia o valor deve se situar entre -0,530 e 0,550 °H e para acidez Dornic, o valor deve estar entre 14 a 18 °D.

Todas as amostras de leite avaliadas estavam com os parâmetros de identidade e qualidade dentro da legislação, como indica a Tabela 2.

A principal fonte de resíduos de antibióticos em leite é originada do manejo inadequado de drogas no controle de mastites. Essas substâncias são eliminadas pelo leite durante seus períodos de carência, sendo necessário o descarte dessa produção. Antibióticos do grupo dos  $\beta$ -lactâmicos são os mais utilizados para tratamento de doenças em rebanhos leiteiros, portanto os mais frequentemente detectados no leite.

Domareski et al. (2010) constataram, na avaliação físico-química de leites UHT vendidos no bloco Mercosul que, das 12 amostras analisadas, quatro estavam com o valor de densidade relativa abaixo de 1,028 g/l, sendo que quatro amostras apresentaram densidade igual a 1,028 g/l e as outras quatro densidade igual a 1,029 g/l.

Giombelli et al. (2011) analisaram os valores da densidade de 192 amostras de leite pasteurizado, entre os anos de 2006 e 2008. A porcentagem de amostras fora do padrão foi de 5,0% em 2006, 2,7% em 2007 e 2,67% em 2008, evidenciando a melhoria da qualidade no leite.

#### **4.1.2 Queijos**

Os queijos fabricados com os três lotes de leite avaliados foram submetidos à análises físico-químicas para comparação do efeito dos tratamentos. Na Tabela 3, pode-se observar as médias da composição centesimal, extensão da maturação, profundidade da maturação, teor de cálcio, fósforo, sódio e pH.

Tabela 3: Análises físico-químicas dos queijos nos quatro tratamentos (n=36).

Análise	Tratamentos*			
	T1	T2	T3	T4
Umidade (%)	57,65	57,30	57,08	57,45
Matéria seca (%)	42,35	42,70	42,92	42,55
Lipídeos (%)	20,45	20,16	20,33	19,72
Proteína bruta (%)	16,87	17,30	17,74	18,00
Carboidratos (%)	2,40	2,95	2,62	2,73
Ext. da maturação (%)	16,90	16,03	16,79	16,11
Prof. da maturação (%)	8,00	7,74	7,60	7,61
Cinzas (%)	2,24	2,19	2,21	2,21
Sódio (%)	0,86	0,84	0,85	0,85
Cálcio (%)	0,22	0,22	0,23	0,22
Fósforo (%)	0,31	0,31	0,32	0,31
pH	5,40	5,40	5,40	5,40

\* Teste F ao nível de 5% de significância sem diferença significativa entre tratamentos nos parâmetros físico-químicos analisados.

(T1): Tratamento testemunha

(T2): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de eucalipto.

(T3): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de pinheiro.

(T4): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de cipreste.

O teor médio de todos os parâmetros físico-químicos não mostraram diferenças significativas na análise de variância nos diferentes tratamentos avaliados. É sabido que o pH do queijo inicialmente diminui devido à formação de ácido láctico, a partir do metabolismo da lactose. Essa queda de pH ocorre principalmente nos primeiros dias da fabricação. De acordo com Narimatsu et al. (2003), a variação de pH ao longo do tempo também depende da capacidade tamponante do queijo, devido à quantidade de proteínas e sais minerais presentes. Nas diferentes fabricações houve certa diferença entre elas, mas isso

ocorreu devido a eventos estritamente aleatórios, os quais foram incidentes entre todos os tratamentos. A simples adição de diferentes madeiras, comparando com o tratamento testemunha que recebeu uma tira de plástico PET, não interferiu nos teores de nutrientes e no comportamento da maturação, como se observa no teor de nitrogênio solúvel. De acordo com Narimatsu et al. (2003), a proteólise é indicada pelo aumento dos índices de extensão e profundidade no decorrer do tempo. O índice de extensão está relacionado com as proteinases naturais do leite e do agente coagulante, as quais degradam a proteína em peptídeos de alto peso molecular. O índice de profundidade de proteólise está relacionado com a atividade das endoenzimas e exoenzimas da cultura láctica empregada na fabricação do queijo e de possíveis contaminantes, que degradam os peptídeos de alto peso molecular a peptídeos de baixo peso molecular. No entanto, não há uma divisão precisa onde começa um índice e termina o outro.

As madeiras são matérias formadas, principalmente, por fibras como celulose, hemicelulose e lignina (ROWELL et al., 2005). Esses compostos são altamente resistentes ao ataque de bactérias e pouco solúveis em água. O tempo de maturação de 21 dias e as condições empregadas na fabricação não afetaram de forma incisiva a degradação da madeira, de forma a alterar a composição do queijo, principalmente o teor de carboidratos já que esse seria o composto mais provável a ser formado pela degradação da madeira. Embora o teor de umidade do tratamento testemunha tenha sido ligeiramente superior (57,65%) não foi apontado como significativo na ANOVA. Essa pequena diferença pode ser devido a menor absorção de água da tira de plástico, que é totalmente impermeável em relação às madeiras.

Com relação aos teores de nitrogênio, lipídios e minerais, foi natural a semelhança entre os tratamentos já que a madeira é composta principalmente por fibra (ROWELL et al, 2005).

O pH não foi afetado pelos diferentes tratamentos, sendo seu valor médio de 5,40 para todos. O pH baixa nos queijos com adição de fermento devido, principalmente, ao metabolismo das bactérias que transformam a lactose do leite em ácido lático. A madeira não foi determinante no aumento da atividade bacteriana ou na sua diminuição, já que estudos com folhas de espécies de pinheiros e eucaliptos indicam que essas podem conter componentes de ação inibitória para microrganismos. A madeira, aparentemente, não possui esses componentes ou os tem em quantidades que não afetam a atividade dos microrganismos.

A tecnologia de fabricação dos queijos foi bem parecida com a realizada para queijos Minas Frescal. Silva e Ferreira (2010), estudando queijos Minas Frescal encontraram resultados bem diversos de composição centesimal entre diferentes marcas, mas observaram médias de 63% de umidade, 1,3% de carboidratos, 18% de proteína bruta, 19% de gordura, 40% de extrato seco e 289mg.100g<sup>-1</sup> de sódio.

De acordo com Perry (2004), com poucas exceções, os queijos contêm entre 0,5-2,0% de NaCl. Queijos azuis têm em torno de 3-7% de sal. Durante a salga do queijo, a diferença na pressão osmótica entre a salmoura e a massa faz com que parte da umidade dessa seja liberada, arrastando consigo soroproteínas, ácido lático e minerais dissolvidos, ao mesmo tempo em que o NaCl é absorvido. Para que esse equilíbrio funcione bem é importante que a concentração da salmoura e seu pH sejam apropriados; além disso, o teor de cálcio do meio deve ser da ordem de 0,1-0,2% podendo ser ajustado por adição de CaCl<sub>2</sub>, se necessário.

O queijo tipo Camembert, embora seja caracterizado por desenvolvimento de fungo na sua superfície, assemelha-se, em tecnologia, ao queijo do presente trabalho. Leclercq-Perlat et al. (2012), estudando queijo Camembert, observaram que o mesmo possui aproximadamente 41,3% de

matéria seca, pH de 4,80 e teor de lactose aproximado de 1,37%. Sicard et al. (2011), encontraram aproximadamente, em queijo tipo Camembert, entre 40 e 42% de matéria seca.

Os resultados das características físico-químicas dos queijos estudados se assemelham ao de Saboya et al. (1998) que, estudando queijos Minas Frescal com leites reconstituídos, observaram que, com 1, 7, 14 e 21 dias de estocagem, os queijos com 21 dias possuíam: pH de 5,21, extensão de proteólise de 13,03%, profundidade de proteólise de 8,35%, sendo esses os resultados para os queijos com 0% de leite reconstituído.

#### 4.2 Análises microbiológicas dos queijos

Com o objetivo de averiguar a qualidade microbiológica e a influência das madeiras no desenvolvimento de microrganismos foi realizada análise microbiológica de amostras dos queijos submetidos aos quatro tratamentos. A tabela 4 indica os resultados das análises da presença dos microrganismos Coliformes fecais, *Salmonella sp.* e *Listeria monocytogenes*.

Tabela 4: Avaliação microbiológica realizada em queijos nos diferentes tratamentos.

Tratamento	Microrganismos		
	Coliformes fecais	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella sp.</i>
T1	-	-	-
T2	-	-	-
T3	-	-	-
T4	-	-	-

(T1): Tratamento testemunha

(T2): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de eucalipto.

(T3): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de pinheiro.

(T4): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de cipreste.

Todas as amostras de queijo analisadas não apresentaram coliformes totais ou termotolerantes, *Listeria* e *Salmonella*. Mesmo com a realização da pasteurização do leite, dos cuidados com a higiene na produção e dos equipamentos, existe o risco de desenvolvimento de microrganismos. O material utilizado pode ser um promotor desse desenvolvimento, por isso houve a preocupação no presente trabalho em avaliar o potencial das madeiras em causar esse efeito. A madeira devido à sua porosidade e capacidade de isolamento é um elemento essencial na proteção de microrganismos e seus esporos.

Segundo Calci et al. (1998), o grupo das bactérias coliformes totais e fecais é de grande importância, pois muitas delas colonizam o trato intestinal de animais e seres humanos, sendo utilizadas como indicadoras na verificação da qualidade sanitária dos alimentos.

Oliveira et al. (1998) analisaram 32 amostras de queijo Minas frescal de seis fábricas de laticínios, na região Noroeste do estado de São Paulo e verificaram que, em 94% das amostras, foi detectada população de coliformes fecais acima do limite estabelecido pelas legislações.

De acordo com a RDC12/01, amostras de queijo Minas frescal não podem conter a presença de *Listeria monocytogenes*, pois a ingestão de alimentos contaminados por essa bactéria pode causar infecção alimentar, cujos sintomas são náuseas, vômitos e febre, e levar recém-nascidos e imunodeprimidos à morte.

Casarotti, Gallo e Camargo (1994) detectaram a presença de *L. monocytogenes* em queijo Minas frescal, comercializado em Piracicaba-SP. Em 103 amostras de vários tipos de queijos produzidos no Rio de Janeiro, encontraram *L. monocytogenes* (10,68 %), *L. innocua* (12,62 %), *L. grayi* (5,83 %) e *L. wesheimeri* (0,97 %), e observaram alta incidência de *L. monocytogenes*, em queijo Minas frescal (41,17%).

Existe sempre a necessidade de acompanhamento da sanidade de produtos alimentícios, principalmente os novos, pois não se conhece a forma como os microrganismos irão se desenvolver nos mesmos. O leite, matéria prima principal de queijos, também deve ter sua qualidade controlada, pois tanto o rendimento do produto quanto o risco biológico são essenciais para manutenção da qualidade.

### **4.3 Análise sensorial**

#### **4.3.1 Teste de aceitação**

Os testes de aceitação em alimentos são realizados com o intuito de comparar suas características, melhorar o produto, situar o público alvo como potencial consumidor e comparar com o que já existe. Pela Tabela 5, mostram-se as médias do teste de aceitação, submetido ao teste de Tukey após o resultado significativo na análise de variância (ANOVA), para os queijos em cada tratamento.



Tabela 5: Médias do teste de aceitação, submetidas ao teste de Tukey para cada tratamento

Caract. analisada	Tratamento			
	T1	T2	T3	T4
Aparência	5,32 a2	7,33 a1	6,72 a2	7,22 a1
Sabor	6,23 a3	7,50 a1	5,21 a2	7,14 a1
Odor	5,48 a3	6,30 a2	6,91 a1	7,07 a1
Consistência	7,05 a1	7,00 a1	6,86 a1	6,95 a1
Imp. global	5,89 a3	7,41 a2	6,01 a3	6,80 a1
Int. de compra*	2,88 a2	4,11 a1	3,10 a2	4,01 a1

Teste de Tukey ao nível de 5% de significância: números iguais como sufixo das letras indicam médias semelhantes

\* Escala de 1 a 5, as outras características possuem escala de 1 a 9.

(T1): Tratamento testemunha

(T2): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de eucalipto.

(T3): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de pinheiro.

(T4): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de cipreste.

Os testes realizados indicaram diferenças significativas entre os tratamentos para todas as características, exceto consistência. O fato de a consistência não ter sido influenciada significativamente é plausível tendo-se em vista que nos resultados das análises físico-químicas, a profundidade e a extensão da maturação, indicaram diferenças não significativas. Como as madeiras ficam em contato externo e lateral ao queijo, não houve passagem de compostos que pudessem alterar a sua estrutura. A alteração da consistência dos queijos portanto, parece estar mais ligada a fatores intrínsecos e extrínsecos que influenciam e alcançam a estrutura interna do queijo como um todo, principalmente a maturação e o teor de matéria seca.

Na aparência, houve maior aceitação das madeiras de cipreste (7,22) e eucalipto (7,33), a do pinheiro (6,72) ocupou a posição intermediária e sem a

madeira (5,32) a final. A madeira foi positivamente importante para os voluntários participantes da pesquisa e trouxe apelo comercial ao produto. Elementos que incrementam a aparência são comuns na indústria alimentícia. Com o objetivo de chamar a atenção ou melhorar a aparência, tem-se como exemplo mais notório os corantes, aplicados principalmente em bebidas. A aparência é a característica que melhor deve ser estudada principalmente entre novos produtos, pois ela é a primeira a ser percebida pelos consumidores na hora da compra. Existem situações em que a aparência pode levar ao provador numa análise sensorial, dar nota maior para um mesmo produto no sabor e/ou odor, simplesmente por ter aparência melhor em relação a outro produto idêntico.

O sabor de produtos alimentícios pode ser afetado por ingredientes adicionados em quantidades elevadas no produto, como açúcar e sal. Mas pode ocorrer de compostos, mesmo em quantidades ínfimas, afetarem o sabor e o odor do produto. Embora a composição centesimal não indique diferenças significativas (devido à imprecisão em quantificar elementos), compostos químicos em quantidades-traço foram incorporados aos queijos através das cascas das árvores. No quesito sabor, houve maior aceitação dos provadores para o eucalipto (7,50) e o cipreste (7,14), ficando a testemunha em intermediário, com 6,23 e o pinheiro com 5,21, o que indica que os compostos da casca do pinheiro passados aos queijos, não trouxeram vantagem ao sabor.

Sobre o odor, houve alteração de resultados. Eucalipto e testemunha obtiveram notas inferiores (5,48 e 6,30 respectivamente) e cipreste e pinheiro as maiores notas (7,07 e 6,91 respectivamente). A explicação para esse fato é que a casca de eucalipto possui odor discreto, resultando em baixa incorporação de compostos voláteis ao queijo. Com isso o odor natural do queijo ficou mais predominante. A testemunha naturalmente exalou o odor puro e natural do queijo, sem interferência de casca. Esse odor natural do queijo, foi o menos agradável quando comparado com todos os queijos com casca. O odor da casca

de cipreste foi o mais agradável e incorporado em maior quantidade ao queijo e o de pinheiro, também elevou positivamente a qualidade odorífera do produto.

Sobre impressão global e intenção de compra, são formas de análises que dão uma ideia da aceitação geral do provador com relação aos tratamentos aplicados aos produtos. O queijos envolvidos com casca de cipreste e eucálio, obtiveram maiores notas para impressão global (7,41 e 6,80 respectivamente) denotando boa aceitação dos atributos, sendo que a testemunha e o pinheiro (5,89 e 6,01 respectivamente) foram menos aceitos. O tratamento com pinheiro foi prejudicado com relação à passagem de sabor desagradável em relação aos outros enquanto que a testemunha foi a pior avaliada em relação aos outros tratamentos pela ausência da casca, o que prejudicou a aparência e o odor.

#### **4.3.2 Análise dos atributos**

Na avaliação sensorial, os provadores possuem liberdade de destacar os atributos que mais chamaram atenção para cada amostra como forma de aumentar a quantidade de informações e destacar parâmetros mais evidentes. Na Tabela 6 indicam-se os atributos mais significativos para o odor para cada um dos tratamentos.

Tabela 6: Frequência em porcentagem de atributos percebidos na característica odor

Odor	Tratamento			
	T1	T2	T3	T4
Atributo				
Amadeirado	8,8	36,8	76,5	83,8
Floral	11,8	25,5	67,6	51,5
Inodoro	64,7	47,1	10,3	8,8
Refrescante	20,6	30,9	63,2	66,2
Estranho	35,3	29,4	25,0	16,2

(T1): Tratamento testemunha

(T2): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de eucalipto.

(T3): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de pinheiro.

(T4): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de cipreste.

Conforme observado na Tabela 6, o cipreste e o pinheiro tiveram melhor percepção de odor em relação ao eucalipto e à testemunha. O tratamento testemunha naturalmente destacou-se pela presença do odor natural do queijo, que não agradou ao olfato dos provadores, quando comparado aos queijos com as casca. No queijo com casca de eucalipto, embora discreto na presença do odor, houve pequena percepção. Esse resultado é surpreendente, tendo-se em vista que espécies de eucaliptos são referência em odor, no que diz respeito à suas folhas. Destaca-se na Tabela 6, a presença de odor floral e amadeirado nos queijos com casca de pinheiro e amadeirado e refrescante nos queijos com casca de cipreste. Nos queijos com casca de eucalipto, destaque para percepção equilibrada entre inodoro e amadeirado, enquanto a testemunha obteve um índice de reprovação maior para o odor com 35,3% de percepção de odor estranho e 64,7% de percepção como inodora. A Tabela 7 apresenta a frequência de marcações de atributos percebidos, com relação ao parâmetro sabor.

Tabela 7: Frequência em porcentagem de atributos percebidos na característica sabor.

Sabor	Tratamentos			
	T1	T2	T3	T4
Agradável	29,4	70,6	36,8	47,1
Ácido	76,5	54,4	80,9	45,6
Adstringente	13,2	23,5	54,4	20,6
Amargo	26,5	16,2	47,1	11,8
Refrescante	22,1	41,2	14,7	63,2

(T1): Tratamento testemunha

(T2): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de eucalipto.

(T3): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de pinheiro.

(T4): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de cipreste.

No atributo sabor, os queijos com casca de eucalipto foi o que possuiu maior aceitação por parte dos provadores com 70,6% de indicação de sabor agradável, o cipreste obteve 47,1% de percepção de sabor agradável, provavelmente pelo fato de os componentes da casca terem deixado excesso de substâncias de sabor mais marcante. O pinheiro obteve a pior avaliação com destaque para o sabor ácido e amargo (80,9% e 47,2% respectivamente), provavelmente por excesso de compostos de sabor desagradável, provavelmente oriundos da resina, que a casca passou ao queijo. A testemunha destacou-se pelo sabor ácido devido ao ácido láctico produzido pelos microrganismos e pela baixa frequência de marcação sabor agradável

A Tabela 8 mostra como a característica textura foi avaliada pelos voluntários.

Tabela 8: Frequência em porcentagem de atributos percebidos na característica consistência

Consistência	Tratamento			
	T1	T2	T3	T4
Atributo				
Macia	85,3	86,8	88,2	83,8
Pegajosa	88,2	80,9	77,9	73,5
Creмоса	86,8	83,8	80,9	82,4
Firme	10,3	8,8	7,4	11,8

(T1): Tratamento testemunha

(T2): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de eucalipto.

(T3): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de pinheiro.

(T4): Envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de casca de cipreste.

O parâmetro consistência, como esperado, não obteve frequências muito diferentes entre os queijos, as atribuições macia e cremosa foram as mais percebidas pelos provadores. Isso é natural, pois não se espera que a casca traga maior decomposição da estrutura do queijo e seus componentes. O fato dos queijos serem de alta umidade e terem passado por maturação, foram os principais motivos para a textura macia e cremosa predominarem. Como toda análise envolvendo pessoas traz certa subjetividade, observam-se algumas marcações no atributo firme, mas de forma pouco representativa.

A Figura 9 apresenta o resultado sobre a preferência geral dos voluntários pela presença ou não da madeira no queijo.

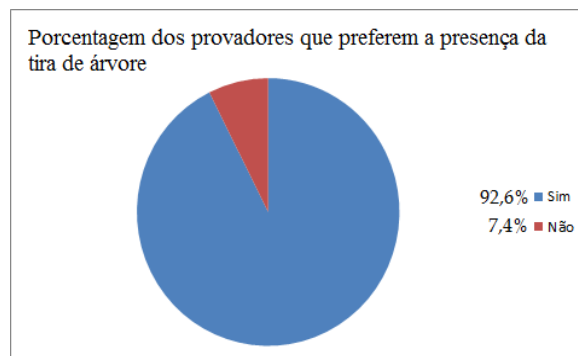


Figura 10: Gráfico da preferência pela presença ou não pela madeira em % em relação a todos os voluntários participantes da pesquisa.

Foi clara a aceitação dos provedores que avaliaram a aparência do queijo. 92,6% preferiram o queijo com a casca e apenas 7,4% preferiram sem a casca. Essa etapa da avaliação ocorreu após a análise dos outros atributos já que o apelo visual dos queijos poderia interferir nos resultados referentes aos outros sentidos. A imagem do produto alimentício é um dos mais importantes fatores do sucesso ou não do mesmo no mercado. A casca trouxe um aspecto mais rústico e chamativo aos queijos, o que resultou em na aceitação dos provedores. De acordo com Hurling e Shepherd (2003) a aparência de alimentos cozidos e crus pode influenciar o gosto do consumidor ao final do consumo, indicando o apelo visual na preferência.

#### 4.4 Análise do perfil aromático por cromatografia gasosa

Com o objetivo de mensurar a passagem de substâncias aromáticas da casca para o queijo e confrontar com os resultados da análise sensorial, realizou-se cromatografia gasosa de todos os queijos, mais as cascas utilizadas nos tratamentos. A Tabela 9 mostra os principais componentes identificados, tempo de retenção (TR) em minutos e porcentagem de área dos picos normalizada.

Tabela 9: Compostos presentes na casca de cipreste, tempo de retenção (TR) em minutos e área normalizada dos picos em porcentagem

Nome do composto	TR(min.)	% de área
*	8,64	0,80
$\alpha$ - tujeno	8,78	0,43
$\alpha$ -pineno	9,03	31,81
*	9,38	2,94
Verbenona	9,54	0,13
1,3,8-p-mentatrieno	9,84	0,07
Sabineno	10,06	0,50
$\beta$ - pineno	10,15	2,45
$\beta$ - mirceno	10,54	17,71
*	10,91	0,24
3-careno	11,06	6,21
$\alpha$ - terpineno	11,23	0,47
Cimeno	11,45	3,35
Limoneno	11,57	11,37
Ocimeno	12,05	4,41
$\gamma$ -terpineno	12,37	0,67
$\alpha$ - terpinoleno	13,16	10,42
*	13,85	0,22
1,3,8-p-mentatrieno	14,42	0,18
Trans- pinocarveol	14,53	0,15
Canfenilol	14,77	0,40
Borneol	15,21	0,21
*	16,33	0,19
*	17,05	0,39
$\alpha$ -cubebeno	19,54	0,88
Longifoleno	20,91	0,65
*	21,18	2,47
$\alpha$ -cariofileno	21,91	0,18

\* indica compostos não identificados



A Tabela 10 mostra os principais componentes identificados, tempo de retenção (TR) e porcentagem de área dos picos.

Tabela 10: Compostos presentes na casca de pinheiro, tempo de retenção (TR) em minutos e área normalizada dos picos em porcentagem

Nome do composto	TR(min.)	% de área
$\alpha$ - pinene	8,96	34,33
Canfeno	9,38	0,46
$\beta$ - pineno	10,15	0,92
mirceno	10,52	1,74
*	10,64	0,42
$\alpha$ -felandreno	10,90	2,38
3-careno	11,06	0,95
$\alpha$ -terpineno	11,24	0,49
Cimeno	11,46	1,63
$\beta$ - felandreno	11,58	55,56
Hexano, 3,3-dimetil	12,26	0,14
Bornil valerato	12,40	0,13
$\alpha$ -terpinoleno	13,18	0,22
*	13,43	0,17
*	13,58	0,01
2-bornanol	15,22	0,22
*	17,67	0,03
*	17,80	0,20

\* indica compostos não identificados

A Tabela 11 mostra os principais componentes identificados, tempo de retenção (TR) e porcentagem de área dos picos.

Tabela 11: Compostos presentes na casca de eucalipto, tempo de retenção (TR) em minutos e área normalizada dos picos em porcentagem

Nome do composto	TR(min.)	% de área
*	4,15	2,72
*	4,21	5,44
Triciclono	8,64	0,47
$\alpha$ -felandreno	8,78	0,23
$\alpha$ - pineno	8,96	71,16
Canfeno	9,38	2,05
B-pineno	10,15	1,4
mirceno	10,53	3,58
3-carene	11,06	3,66
Limoneno	11,56	6,76
*	12,26	0,31
$\alpha$ - terpinoleno	13,18	0,73
4,5-dimetil-nonano	13,44	0,21
*	17,80	0,31
Cariofileno	21,18	0,25
*	22,83	0,28
Delta cadineno	23,30	0,44

\* indica compostos não identificados

A partir dos resultados dos compostos presentes no tratamento testemunha e nas cascas de pinheiro, cipreste e eucalipto, foi feita análise de cada um dos componentes e sua % de área. Observa-se que o número de componentes identificados no cipreste e no pinheiro, foi bem superior aos componentes identificados na casca de eucalipto.

Nas cascas houve predomínio de compostos fenólicos. De acordo com Klock et al. (2005) a madeiras apresentam diversas composições de substâncias. Junto com os componentes da parede celular existem numerosas substâncias que

são chamadas de materiais acidentais ou estranhos da madeira. Esses materiais são responsáveis muitas vezes por certas propriedades como: odor, sabor, cor, etc. Embora esses componentes contribuam somente com uma pequena porcentagem da massa da madeira, podem apresentar uma grande influência nas propriedades e na qualidade de processamento das madeiras.

Segundo Klock et al. (2005), dentre as substâncias aromáticas ou de baixo peso molecular destacam-se os compostos fenólicos sendo os mais importantes os compostos tanínicos, estilbenos, lignanas, flavonóides e seus derivados. Os terpenos que englobam um grande grupo de substâncias naturais. Os ácidos alifáticos - ácidos graxos saturados e insaturados são encontrados na madeira principalmente na forma dos seus ésteres, com glicerol (gordura e óleo) ou com álcoois (ceras).

A sensação percebida na análise sensorial é a de que os queijos elaborados com as cascas de cipreste e pinheiro tiveram odor mais pronunciado. O odor da testemunha foi o menos apreciado e o do queijo elaborado com casca de eucalipto mostrou odor mais discreto.

A Tabela 12 mostra a porcentagem de área dos picos dos principais compostos identificados em cromatografia gasosa para cada tratamento, nas camadas externas e mais internas dos queijos

Tabela 12: Porcentagem de área normalizada dos compostos identificados, tempo de retenção (TR) em minutos em cromatografia gasosa para cada tratamento

Nome dos compostos	TR(min.)	Porcentagem de área dos compostos em relação à área total dos picos nos tratamentos						
		T	E <sub>CE</sub>	E <sub>CI</sub>	C <sub>CE</sub>	C <sub>CI</sub>	P <sub>CE</sub>	P <sub>CI</sub>
Etanol	1,57	0,12	0,12	0,12	0,11	0,12	0,11	0,12
*	1,78	0,90	0,89	0,91	0,83	0,91	0,83	0,91
Ácido Fórmico	1,89	0,36	0,35	0,36	0,33	0,36	0,33	0,36
*	1,99	0,75	0,74	0,75	0,69	0,75	0,69	0,76
Prop-2-en-1-ol	2,09	0,49	0,48	0,49	0,45	0,49	0,45	0,49
1-propanol	2,14	0,81	0,80	0,82	0,75	0,82	0,74	0,82
2-butanol	2,40	9,12	8,88	9,08	8,33	9,08	8,29	9,08
Ácido acético etil ester	2,52	0,63	0,62	0,63	0,58	0,63	0,58	0,63
1-propanol-2-metil	2,64	0,33	0,32	0,33	0,30	0,33	0,30	0,33
3-metil butanal	2,94	0,48	0,47	0,48	0,44	0,48	0,44	0,48
2-metil butanal	3,07	0,11	0,11	0,11	0,10	0,11	0,10	0,11
Alcool isoamil	4,12	19,70	19,20	19,63	18,01	19,62	17,92	19,63
Ácido isovalerico	7,20	27,83	27,41	28,01	25,70	28,01	25,58	28,02
Ácido butírico	7,31	0,76	0,75	0,76	0,70	0,76	0,70	0,77
1-butanol	7,47	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
2-heptanona	7,79	18,97	18,58	18,99	17,43	18,99	17,34	19,00
2-heptanol	8,06	8,51	8,18	8,36	7,67	8,36	7,64	8,37
$\alpha$ -pineno**	8,96	0,15	1,27	0,16	3,88	0,19	4,48	0,16
Canfeno**	9,36	-	-	-	-	-	0,29	-
$\beta$ - pineno**	10,13	-	-	-	-	-	2,18	-
Limoneno**	11,56	0,28	1,35	0,30	3,23	0,29	2,16	0,28
Etil capronato	10,73	5,79	5,70	5,83	5,35	5,83	5,32	5,82

Tabela 12, continua

Nome dos compostos	TR(min.)	Porcentagem de área dos compostos em relação a área total dos picos nos tratamentos						
		T	E <sub>CE</sub>	E <sub>CI</sub>	C <sub>CE</sub>	C <sub>CI</sub>	P <sub>CE</sub>	P <sub>CI</sub>
2,3-ácido nonadienóico	13,20	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
2-nonanona	13,22	2,73	2,69	2,75	2,52	2,75	2,51	2,75
*	14,69	0,55	0,54	0,55	0,51	0,55	0,51	0,55
Exo-metil-canfenilol**	14,77	-	-	-	0,92	-	-	-
Borneol**	15,21	-	-	-	0,65	-	-	-
*	15,21	0,48	0,47	0,48	0,44	0,44	0,44	0,48
$\alpha$ -benzetanol	19,91	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

\*composto não identificado na cromatografia

\*\*composto presente tanto nos queijos quanto nas madeiras

- indica porcentagem de composto zero ou próxima de zero.

T : porção única do tratamento correspondente ao envolvimento dos queijos durante a maturação com tira de plástico PET (tratamento testemunha).

E<sub>CE</sub> : camada externa do queijo envolvido durante a maturação com tira de casca de eucalipto.

E<sub>CI</sub> : camada interna do queijo envolvido durante a maturação com tira de casca de eucalipto.

P<sub>CE</sub>: camada externa do queijo envolvido durante a maturação com tira de casca de pinheiro.

P<sub>CI</sub>: camada interna do queijo envolvido durante a maturação com tira de casca de pinheiro.

C<sub>CE</sub>: camada externa do queijo envolvido durante a maturação com tira de casca de cipreste.

C<sub>CI</sub>: camada interna do queijo envolvido durante a maturação com tira de casca de cipreste.

A Figura 11 mostra em porcentagem, uma intersecção de componentes das madeiras e dos queijos.

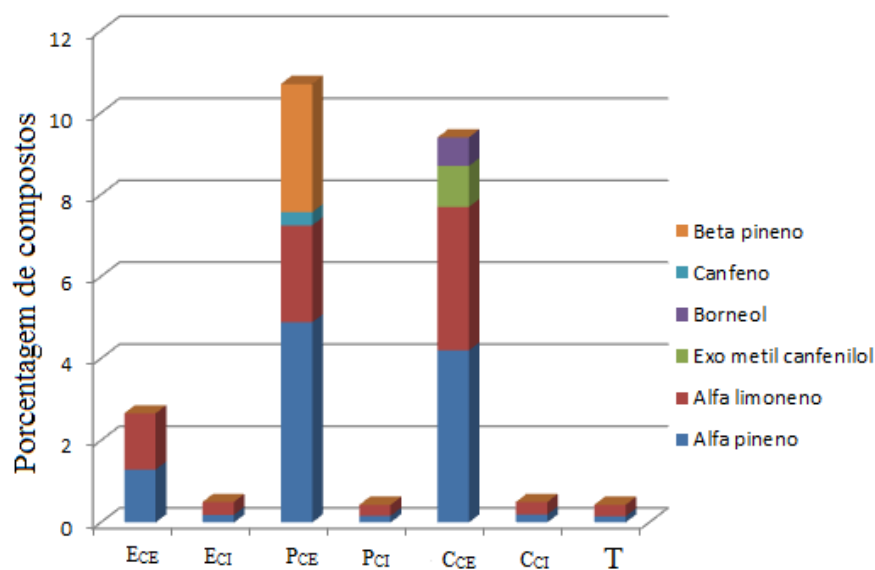


Figura 11: Gráfico dos teores de compostos em % de área, para os diferentes tratamentos.

Há predomínio nos queijos de álcoois, ácidos e aldeídos, de substâncias naturais devido ao metabolismo dos microrganismos e do próprio animal na síntese do leite. Um fato que merece destaque na análise é a ocorrência de componentes naturais de óleos essenciais e partes vegetais como o limoneno e o pineno, terem sido identificados no tratamento testemunha. Uma explicação deste fenômeno segundo Chiofalo et al. (2004), é o fato de animais ruminantes comumente se alimentarem de forragens verdes, portanto os mesmos acabam migrando para o leite produzido pelo animal.

Conforme observado na Figura 11, só apresentaram quantidades maiores e mais variedades de compostos, a porção externa do queijo que ficou em contato com a casca. Os compostos limoneno e  $\alpha$ -pineno foram os predominantes, enquanto no pinheiro houve grande incorporação também de  $\beta$ -pineno. O queijo com casca de cipreste apresentou certa incorporação de borneol e exo-metil-canfenilol. O queijo elaborado com casca de eucalipto apresentou os mesmos compostos do queijo testemunha, mas em maior quantidade. As folhas de eucalipto são ricas em compostos aromáticos, mas surpreendentemente a casca não.

De acordo com Salgado et al. (2003), os óleos etéreos (riquíssimos em compostos aromáticos) são sintetizados basicamente nas folhas. Os componentes voláteis em número, encontrados no óleo essencial de eucalipto, podem passar de 100. A espécie de destaque na extração de óleos essenciais em suas folhas é a *Eucalyptus citriodora*.

Sobre a madeira das coníferas, elas apresentam quantidades significativas de compostos aromáticos. Os extrativos de coníferas contêm, geralmente, todas as classes de terpenos, exceto os sesquiterpenos, que são raros. A terebintina, óleo volátil das coníferas, consiste sobretudo de monoterpenos, sendo os mais importantes o  $\alpha$ -pineno, o  $\beta$ -pineno e o limoneno (ONAYADE et al., 1998).

A madeira de coníferas em sua maioria, apresenta resina em sua composição. A resina é uma substância extremamente insolúvel e pouco volátil, sendo assim a incorporação de compostos pelos queijos poderia ter sido ainda maior em quantidade e em número se não fosse esta característica. Morais et al. (2005) identificaram como os principais constituintes do extrato diclorometano de madeira de *Pinus oocarpa* os ácidos diterpênicos além dos ácidos palmítico e oléico. No óleo essencial, extraído por aparelho de Clevenger, os principais componentes identificados foram ledano, hexadecanal e ácido oleico. Em óleo

essencial da madeira obtido por extração, foram encontrados por meio de cromatografia gasosa, aproximadamente 65 componentes (MORAIS et al. 2005).



## 5 CONCLUSÃO

As madeiras não interferiram de forma significativa nas características físico-químicas e no desenvolvimento de microrganismos nos queijos, sendo todas elas seguras para serem utilizadas, se for realizado correto tratamento térmico delas e do leite.

Ocorreu maior aceitação dos queijos maturados com tiras de casca de cipreste e eucalipto. No caso do queijo maturado com tira de casca de pinheiro houve aceitação, para incorporação de odor e aparência, mas não o sabor, que teve menor aceitação em relação ao tratamento testemunha.

Houve incorporação de compostos voláteis principalmente nos tratamentos com tira de casca de cipreste e pinheiro. No caso da casca de eucalipto, houve aumento dos compostos voláteis  $\alpha$ -pineno e  $\alpha$ -limoneno presentes também no tratamento testemunha, que tinham origem provável do volumoso ingerido pelo ruminante.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJOS. **Produção de queijos no Brasil em 2011**. São Paulo, 2013. Disponível em: <<http://www.scotconsultoria.com.br/noticias/artigos/28592/producao-de-queijos-no-brasil-deve-ultrapassar-10-milhao-de-toneladas-em-2013.htm>>. Acesso em: 12 dez. 2013.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CELULOSE E PAPEL. **Relatório florestal 2010-2011**. São Paulo, 2011. Disponível em: <[http://www.bracelpa.org.br/bra2/sites/default/files/public/RA02-RelatorioFlorestal\\_2010.pdf](http://www.bracelpa.org.br/bra2/sites/default/files/public/RA02-RelatorioFlorestal_2010.pdf)>. Acesso em: 12 fev. 2013

BARROS, J. J. C. et al. Queijo parmesão: caracterização físico-química, microbiológica e microestrutura. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 2, p. 285-294, abr./jun. 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Aprova regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos de alimentos. 2001. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC\\_12\\_2001.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 2 nov. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa 62, de 29 de setembro de 2011. Regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, leite cru refrigerado, leite pasteurizado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. 2011. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Seção I, Brasília, 30 dez. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Estabelece métodos analíticos físico-químicos oficiais para leite e produtos lácteos. 2006. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, p. 8, Seção 1, 12 dez. 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Portaria n° 146, de 07 de março de 1996**. Estabelece o regulamento técnico de identidade e qualidade do leite UAT (UHT). 1996. Disponível em: <<http://www.sfdk.com.br/imagens/lei/MA%20-20Portaria%20146.htm>>. Acesso em: 11 out. 2013.

BROWNING, B. L. The composition and chemistry reactions of wood. In: \_\_\_\_\_. **The chemistry of wood**. Malabar: J. Wiley, 1963. p. 58-101.

CALCI, K. R. et al. Occurrence of male-specific bacteriophage in fecal and domestic animal wastes, human feces and human-associated wastewaters. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, n. 64, v. 12, p. 5027-5029, Dez. 1998.

CASAROTTI, V. T.; GALLO, C. R.; CAMARGO, R. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in raw milk, pasteurized type C milk and minas frescal cheese commercialized in Piracicaba-São Paulo. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 44, n. 3, p 158-163, Set. 1994.

CHIOFALO, B.; ZUMBO, A.; COSTA, R.; LIOTTA, L.; MONDELLO, L.; DUGO, P.; CHIOFALO, V. Characterization of maltese goat milk cheese flavour using SPME-GC/MS. **South African Journal of Animal Science**, v. 34, n. 1, p. 176-180, 2004.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7. ed. Campinas: UNICAMP, 1997. 279 p.

DELLA LUCIA, S. M.; MININ, V. P. R. M.; CARNEIRO, J. D. S. Análise sensorial de alimentos. In: MININ, V. P. R. (Ed.). **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa, MG: UFV, 2006. 225 p.

DOMARESKI, J. L. et al. Avaliação físico-química e microbiológica do leite UHT comercializado em três países do Mercosul (Brasil, Argentina e Paraguai). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 60, n. 3, p. 261-269, Set. 2010.

ELSON, C. E.; MALTZMAN, T. H.; BOSTON, J. L.; TANNER, M. A.; GOULD, M. N. Anti-carcinogenic activity of d-limonene during the initiation and promotion/progression stages of DMBA-induced rat mammary carcinogenesis. **Carcinogenesis**, Oxford, v. 9, p. 331-332, 1987.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, Nov./Dec. 2011.

FERREIRA, I.; PINHO, O.; SAMPAIO, P. Volatile fraction of cheese: influence of breed. **Food Chemistry**, v. 112, p. 1053-1059, 2009.

FOELKEL, C. Casca da árvore do eucalipto. 2010. **Eucalyptus online book and newsletter**. Disponível em: <<http://www.eucalyptus.com.br>>. Acesso em: 15 fev. 2013.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Top production** – cow milk, whole, fresh 2011. 2013. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 2 mar. 2013.

FOX, P. F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1993. v. 2, 601 p.

FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; MCSWEENEY, P.L.H. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersbutg: Aspen, 2000. 587 p.

FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H.; COGAN, T.M.; GUINEE, T.P. **Fundamentals of cheese science**. 3<sup>rd</sup> ed. Madison: Elsevier, 2004. 617 p.

FOX, P.; MCSWEENEY, P. **Dairy chemistry and biochemistry**. London: Blackie Academic & Professional, 1998. 478 p.

FRANK, D. C.; OWEN, C. M.; PATTERSON, J. Solid phase microextraction (SPME) combined with gas-chromatography and olfactometry-mass spectrometry for characterization of cheese aroma compounds. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, v. 37, n. 2, p. 139-154, Mar. 2004.

FUQUAY, J.; FOX, P.; MCSWEENEY, P. **Encyclopedia of dairy sciences**. United Kingdom: Elsevier/Academic, 2011. 4170 p.

GIOMBELLI, C. J. et al. Avaliação da qualidade microbiológica, físico-química e dos parâmetros enzimáticos de leite pasteurizado e leite tipo B produzidos no Paraná. **Semina: ciências agrárias**, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1539-1546, Out./Nov. 2011.

GUNDIDZA, M. et al. The chemical composition and biological activities of essential oil from the fresh leaves of schinus terebinthifolius from zimbabwe. **African Journal of Biotechnology**, Sepele, v. 8, n. 24, p. 7164-7169, 2009.

GUSSO, A. N. Salga de queijos - uma revisão. In: ENCONTRO DE DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA, 1., 2009. **Anais...** Disponível em: <[http://www.utfpr.edu.br/toledo/estrutura-universitaria/diretorias/dirppg/anais-do-endict-encontro-de-divulgacao-cientifica-e-tecnologica/anais-i-endict/Ana%20Gusso%20\\_Queijo%20p.70-74\\_.pdf](http://www.utfpr.edu.br/toledo/estrutura-universitaria/diretorias/dirppg/anais-do-endict-encontro-de-divulgacao-cientifica-e-tecnologica/anais-i-endict/Ana%20Gusso%20_Queijo%20p.70-74_.pdf)>. Acesso em: 12 set. 2013.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, Champaign v. 77, p. 2103–2112, Dez. 1994.

HUGENHOLTZ, J. Citrate metabolism in lactic acid bacteria. **FEMS Microbiology Ecology**, Kerala, v. 12, n. 1-3, p. 165–178, 1993.

HURLING, R.; SHEPHERD, R. Eating with your eyes: effect of appearance on expectations of liking. **Appetite**, v. 41, n. 2, p. 167-174, Out. 2003.

INNOCENTINI, A. P. **Extração e caracterização analítica do óleo essencial da espécie *Aniba canelilla*, visando o isolamento do composto majoritário, 1-nitro-2-feniletano, e seu uso toxicológico.** 2000. 250 p. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade de São Paulo Instituto de Química São Carlos, São Carlos, 2000.

JAY, J. M. **Modern food microbiology.** 5. ed. New York: Chapman and Hall, 1996. 661 p.

KLEMM, D. et al. Cellulose: fascinationg biopolymer and sustainable raw material. **Angewandte Chemie International**, Weinheim, v. 44, n. 22, p.3358-3393, Mai. 2005.

KLOCK, U. et al. **Química da madeira.** 3. ed. Curitiba, FUPEF, 2005. 170 p.

KOSIKOWSKY, F. **Cheese and fermented milk foods.** New York: Cornell University, 1970. 429 p.

LADEIRA, B. C. **Crescimento, produção de biomassa e eficiência nutricional de *Eucalyptus spp.*, sob três espaçamento, em uma sequência de idades.** 1999. 132 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1999.

LANGE, B. M. et al. A family of transketolases that directs isoprenoid biosynthesis via a mevalonate-independent pathway. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 95, p. 2100-2104, 1998.

LECLERCQ-PERLAT, M-N. et al. Temperature and relative humidity influence the microbial and physicochemical characteristics of Camembert-type cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign v. 95, n. 1, p. 4666–4682, Mar. 2012.

McNAIR, H. M.; MILLER, J. M. **Basic gas chromatography**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Wiley-VCH, 1997. 256 p.

McSWEENEY, P. **Cheese problems solved**. [S. l.]: Taylor & Francis, 2007. 402 p.

MELO, M. S. Caracteres organolépticos de alimentos e bebidas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 6, n. 1, p.77-95, 1946.

MISSICK P. **Health and safety impacts of citrus-based terpenes in printed circuit board cleaning**. Massachusetts: University of Massachusetts Lowell. The Massachusetts Toxics Use Reduction Institute, 1993. (Technical Report, 6).

MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A.; MELO, D. C. Análise da madeira de *Pinus oocarpa* parte I – estudo dos constituintes macromoleculares e extrativos voláteis. **Revista Árvore**, Viçosa, MG, v. 29, n. 3, p. 461-470, maio/jun. 2005.

NARIMATSU, A.; DORNELLAS, J. R. F.; SPADOTI, L. M.; PIZAIA, P. D.; ROIG S. M. Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo prato obtido por ultrafiltração. **Ciência e Tecnologia e Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 112-118, Dez. 2003.

NOLLET, L.; TOLDRÁ, F. **Handbook of dairy foods analysis**. New York: CRC, 2010. 918 p.

OLIVEIRA, C. A. F.; MORENO, J. F. G.; MESTIERI, L.; GERMANO, P. M. L. Características físico-químicas e microbiológicas de queijos Minas frescal e mussarela produzidos em algumas fábricas de laticínios do Estado de São Paulo. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 55, p. 31-36, Mai./Jun.1998.

ONAYADE, O. A. A. et al. Lavender lactone and other volatile constituents of the oleoresin from seeds of *Garcinia kola* heckle. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 13, n. 6, p. 409-412, Jan. 1998.

PEREIRA, D. B. C. et al. **Físicoquímica do leite e derivados: métodos analíticos**. 2. ed. Juiz de Fora: EPAMIG, 2001. 234 p.

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 63-71, Mar./Abr. 2004.

PHILIPP, P.; D'ALMEIDA, M. L.O. **Celulose e papel: tecnologia de fabricação da pasta celulósica**. 2. ed. São Paulo: IPT, 1988. 964 p.

PINHO, O.; PÉRÈS, C; FERREIRA, I. Solid-phase microextraction of volatile compounds in "Terrincho" ewe cheese. Comparison of different fibers. **Journal of Chromatography**, v. 5, n. 2, p. 1-9, Set. 2003.

REIS, C. R.; MINIM, V. P. R. Testes de aceitação. In: MINIM, V. P. R. (Ed.). **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa, MG: UFV, 2006. p. 67-83.

ROWELL, R. M. (Ed.). **Handbook of wood chemistry and wood composites**. New York: CRC, 2005. 487 p.

SALGADO, A. P. S. P. et al. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana* **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n. 2, Mar./Abr. 2003.

SABOYA, L. V. et al. Efeitos físico-químicos da adição de leite reconstituído na fabricação de queijo minas frescal. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 4, Out./Nov. 1998.

SICARD, M. et al. Toward the integration of expert knowledge and instrumental data to control food processes: application to Camembert-type cheese ripening. **Journal of Dairy Science**, Champaign v. 94, p. 1-13, Jan. 2011.



SILVA, L. F. M.; FERREIRA, K. S. Avaliação de rotulagem nutricional, composição química e valor energético de queijo minas frescal, queijo minas frescal “light” e ricota. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 21, n. 3, p. 437-441, 2010.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3<sup>nd</sup>ed. São Paulo: Livraria Varela, 2010. 552 p.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. (Org.). **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2003. Cap.18, p. 467-495.

SINGH, T.; DRAKE, M.; CADWALLADER, K. Flavor of cheddar cheese: a chemical and sensory perspective. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 2, p. 139-165, 2003.

SWIFT, K. A. D. Catalytic transformation of the major terpene feedstocks. **Topics in Catalysis**, v. 27, n. 1-4, p. 143-155, 2004.

VILEGAS, J. H. Y. **Técnicas modernas de extração e de análise cromatográfica aplicadas ao controle de qualidade de plantas medicinais brasileiras**. 1997. 300 p. Tese (Livre Docência) – Universidade de São Paulo. Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, 1997.

WAGSCHAL, K.; SAVAGE, T. J.; CROTEAU, R. Isotopically sensitive branching as a tool for evaluating multiple product formation by monoterpene cyclases. **Tetrahedron**, v. 47, n. 31, p. 5933-5944, 1991.

WALLACE, J.; FOX, P. Effect of adding free amino acids to Cheddar cheese curd on proteolysis, flavour and texture development. **International Dairy Journal**, v. 7, p. 157-167, 1997.