

**Produção de Queijo Fresco a Partir de  
Leite de Cabra com *Helichrysum picardii* e  
*Crithmum maritimum***

**Ana Paula Souza de Carvalho**

Mestrado em Tecnologia dos Alimentos

2021

**Produção de Queijo Fresco a Partir de  
Leite de Cabra com *Helichrysum picardii* e  
*Crithmum maritimum***

**Ana Paula Souza de Carvalho**

Dissertação

Mestrado em Tecnologia dos Alimentos

Trabalho efetuado sob orientação de:  
Professora Doutora Isabel Maria Carneiro Ratão  
Doutora Luísa Margarida Batista Custódio

2021

# Produção de Queijo Fresco a Partir de Leite de Cabra com *Helichrysum picardii* e *Crithmum maritimum*

## Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

---

©2021, ANA PAULA SOUZA DE CARVALHO

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Esta tese está escrita em Português do Brasil, por ser a nacionalidade da autora.

## **Agradecimentos**

Esta dissertação de mestrado é o resultado de muitas horas de trabalho, por isso é necessário agradecer a algumas pessoas que me ajudaram em mais uma etapa da minha vida.

Especialmente à minha orientadora, Professora Doutora Isabel Ratão, agradeço a orientação exemplar pautada por uma visão crítica e oportuna, pela disponibilidade, ensinamentos, incentivos, ajuda e dedicação incondicional. Sem a Dr.<sup>a</sup> Isabel Ratão não teria sido possível, muito obrigada!

Ao meu esposo Daniel, por todo o incentivo, carinho, companheirismo e muita paciência durante todo este longo percurso. Obrigada por sempre acreditar nas minhas capacidades e por todo o amor e dedicação.

Aos meus pais, Osvaldo e Vera e aos meus irmãos Renata e Júnior, pelas palavras de incentivo e encorajamento valorizando o meu potencial, nos momentos mais difíceis. Sem vocês não teria esta oportunidade de lutar pelos meus sonhos e objetivos.

A minha coorientadora, a Professora Doutora Luísa Custodio, pela acolhida no Campus Gambelas e por dividir seus conhecimentos comigo.

A minha colega, que virou amiga, um presente em meio as práticas, Cláudia Veloso por toda paciência, boleias, risadas e ajuda em todo o tempo. Obrigada!

A Bia, obrigada amiga por estar ao meu lado desde o início do mestrado, obrigada pela sua amizade.

A todos os meus amigos, especialmente Ana, Carol, Guida, Pri, Tyara e Tacha que, entendendo a jornada, sempre deram-me palavras de ânimo que tinham um peso a mais. E os demais que estiveram do meu lado e que foram motivo de riso e leveza nessa caminhada.

Meu muito obrigada! Sou mestra!

## Resumo

Dia após dia é possível observar uma tendência mundial para consumir alimentos considerados saudáveis acrescidos de conservantes ou ingredientes naturais ou ambos. Normalmente, o fazem em produtos que os consumidores já estão familiarizados, como é o caso do queijo.

Para agregar valor nutricional ao queijo é comum a adição de plantas. As plantas halófitas são tolerantes ao sal e possuem muitos compostos bioativos. Neste trabalho fez-se o processamento e caracterização dos queijos frescos de cabra adicionados das plantas halófitas *Helichrysum picardii* e *Crithmum maritimum*. Caracterização esta, baseada em parâmetros microbiológicos e físico-químicos, como a determinação da atividade antioxidante.

Relativamente ao momento da adição das plantas, os resultados obtidos mostram que no tocante à cor a adição das plantas, após a coagulação, parece manter o queijo menos amarelado. O teor de gordura foi superior no queijo com adição da planta *C. maritimum* antes da coagulação (17-19%) face ao queijo com adição após (15,8-16%). Nos queijos com adição de biomassa de *H. picardii*, o percentual de extrato seco (29,93%) foi superior às restantes condições, independentemente da planta e da forma em que seja adicionada. Para  $a_w$ , o menor valor atingido foi com *H. picardii*, com adição de biomassa após coagulação (0,913). O pH foi mais baixo quando a adição de ambas as plantas ocorreu após a coagulação (variou entre 6,47-6,57), comparado à adição antes da coagulação (variou entre 6,85-6,97). O teor de proteína foi superior (30,96%) quando *C. maritimum* sob a forma de biomassa foi adicionada após a coagulação, comparativamente a quando foi adicionada antes da coagulação (24,20%). Relativamente à atividade antioxidante, não foram encontrados resultados significativos que indicassem que *C. maritimum* agregasse este valor aos queijos, qualquer que fosse a forma de adição da planta (biomassa ou extrato), ou o momento dessa adição.

No que tange aos parâmetros microbiológicos, foram avaliados *Escherichia coli*, *Staphylococcus coagulase positiva*, *Listeria monocytogenes*, Microrganismos a 30 °C, Bolores e Leveduras. Verificou-se que a adição das plantas nos queijos levou a um aumento do número de colónias dos microrganismos a 30 °C e dos fungos, o que se deve, provavelmente, à qualidade microbiológica das plantas. Todos os queijos analisados estavam dentro dos parâmetros exigidos pela legislação no que respeita aos três primeiros patógenos listados.

**Palavras-chave:** queijo fresco, cabra, halófitas, parâmetros microbiológicos, parâmetros físico químicos, atividade antioxidante.

## Abstract

Daily, it is possible to observe a worldwide trend to consume food considered healthy with added natural preservatives, ingredients or both. Usually, this practice is made with products that consumers are already familiar with, like cheese.

To add nutritional value to cheese, it is usual the addition of plants. Halophyte plants are salt tolerant and have a large number of bioactive compounds. In this work, the processing and characterization of fresh goat cheese added with the halophyte plants *Helichrysum picardii* and *Crithmum maritimum* was done. This characterization was based on microbiological and physicochemical parameters, like the determination of antioxidant activity.

Regarding the time of addition of plants, the results obtained show that, in terms of color, the addition of plants after coagulation seems to keep the cheese less yellow. The fat content was higher in cheese with addition of the plant *C. maritimum* before coagulation (17-19%) compared to cheese with addition after coagulation (15.8-16%). In cheeses with the addition of *H. picardii* biomass, the percentage of dry extract (29.93%) was higher than the other conditions, regardless of the plant and the way in which it was added. For  $a_w$ , the lowest value reached was with *H. picardii* with addition of biomass after coagulation (0.913). The pH was lower when the addition of both plants occurred after coagulation (ranged between 6.47-6.57) compared to addition before coagulation (ranged between 6.85-6.97). The protein content was higher (30.96%) when *C. maritimum* biomass was added after coagulation compared to when it was added before coagulation (24.20%). Regarding the antioxidant activity, no indication was found that *C. maritimum* added this value to cheeses, regardless of the form of addition of the plant (biomass or extract), or the time of addition.

In relation to the microbiological parameters, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positive, *Listeria monocytogenes*, Microorganisms at 30 °C, Moulds and Yeasts were evaluated. The addition of plants in cheese leads to an increase in the colony counts of microorganisms at 30 °C and fungi, which is, probably, due to the microbiological quality of the plants. All the analysed cheeses were within the parameters required by legislation, regarding to the first three pathogens listed.

**Keywords:** fresh cheese, goat, halophytes, microbiological parameters, physical chemical parameters, antioxidant activity.

# Índice

Agradecimentos.....	i
Resumo.....	ii
Abstract .....	iii
Índice.....	iv
Índice figuras .....	vii
Índice tabelas.....	vii
Lista de abreviaturas.....	ix
<b>1. Introdução.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Objetivos .....</b>	<b>2</b>
2.1. <i>Objetivos gerais</i> .....	2
2.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	2
<b>3. Organização da dissertação .....</b>	<b>3</b>
<b>4. Revisão bibliográfica .....</b>	<b>4</b>
4.1. <i>A cabra</i> .....	4
4.1.1. Origem e história.....	4
4.1.2. Criação de cabras em Portugal.....	4
4.1.3. Criação de cabras no Algarve - Desempenho produtivo .....	5
4.1.4. Leite de cabra .....	6
4.1.4.1. Características físico químicas.....	6
4.1.4.2. Características microbiológicas .....	7
4.1.4.3. Características organoléticas .....	8
4.1.4.4. Características Nutricionais.....	8
4.2. <i>Plantas Halófitas</i> .....	8
4.2.1. <i>Helichrysum picardii</i> .....	9
4.2.2. <i>Crithmum maritimum</i> .....	9
4.3. <i>Queijo</i> .....	10
4.3.1. Origem, história e evolução .....	10
4.3.2. Definição e composição .....	11
4.3.3. Tecnologia de fabrico .....	12
4.3.4. Controlo de qualidade.....	14
4.3.4.1. Controlo físico-químico .....	14
4.3.4.2. Controlo microbiológico .....	18
4.3.5. Tempo de conservação útil .....	24
<b>5. Metodologia.....</b>	<b>26</b>
5.1. <i>Colheita de material vegetal e processamento da biomassa</i> .....	26
5.2. <i>Preparação das infusões (extrato)</i> .....	26
5.3. <i>Determinação da atividade antioxidante</i> .....	26



5.4.	<i>Aquisição do leite</i> .....	26
5.5.	<i>Processamento do queijo</i> .....	26
5.5.1.	<i>Planta (biomassa e extrato) adicionadas após coagulação</i> .....	27
5.5.2.	<i>Planta (biomassa e extrato) adicionadas antes da coagulação</i> .....	30
5.6.	<i>Lotes produzidos</i> .....	30
5.7.	<i>Controlo Físico-químico</i> .....	31
5.7.1.	<i>Rendimento queijeiro</i> .....	31
5.7.2.	<i>Cor</i> .....	32
5.7.3.	<i>pH, atividade de água (a<sub>w</sub>), Extrato Seco, Gordura e Proteína</i> .....	32
5.7.4.	<i>Atividade Antioxidante</i> .....	33
5.8.	<i>Controlo microbiológico</i> .....	33
5.8.1.	<i>Escherichia coli (ISO 16649:2001)</i> .....	33
5.8.2.	<i>Staphylococcus coagulase positiva (ISO 6888:2003)</i> .....	34
5.8.3.	<i>Listeria monocytogenes (ISO 11290:2017)</i> .....	34
5.8.4.	<i>Microorganismos a 30 °C (ISO 4833:2013)</i> .....	34
5.8.5.	<i>Bolores e leveduras (ISO 21527:2008)</i> .....	34
5.9.	<i>Plano experimental e análise de dados</i> .....	35
5.9.1.	<i>H. picardii – Adição de extrato e biomassa após a coagulação (Lote 4)</i> .....	36
5.9.2.	<i>H. picardii – Adição de extrato e biomassa antes da coagulação (Lote 7)</i> .....	36
5.9.3.	<i>C. maritimum – Adição de extrato e biomassa após a coagulação (Lote 5)</i> .....	37
5.9.4.	<i>C. maritimum - Adição de extrato e biomassa antes da coagulação – teste preliminar (lote 6)</i> 37	
5.9.5.	<i>C. maritimum – Adição de extrato e biomassa antes da coagulação (Lote 8)</i> .....	37
5.9.6.	<i>Efeito dos métodos de fabrico nos parâmetros químicos (pH, a<sub>w</sub>, Extrato Seco, Gordura e Proteína)</i> 38	
<b>6.</b>	<b>Resultados e discussão</b> .....	<b>39</b>
6.1.	<i>Rendimento Queijeiro</i> .....	39
6.2.	<i>Helichrysum picardii - Teste de Concentração ótima de Biomassa</i> .....	39
6.3.	<i>Helichrysum picardii – Adição de extrato e biomassa após a coagulação (lote 4)</i> .....	39
6.3.1.	<i>Cor</i> .....	39
6.3.2.	<i>pH, a<sub>w</sub>, extrato seco, gordura</i> .....	42
6.3.3.	<i>E. coli</i> .....	43
6.3.4.	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i> .....	44
6.3.5.	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	44
6.3.6.	<i>Microorganismos a 30 °C</i> .....	44
6.3.7.	<i>Bolores e Leveduras</i> .....	45
6.4.	<i>Helichrysum picardii – Adição de extrato e biomassa antes da coagulação (Lote 7)</i> .....	45

6.4.1.	Cor .....	45
6.4.2.	pH, $a_w$ , extrato seco e gordura .....	48
6.4.3.	<i>E. coli</i> .....	49
6.4.4.	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i> .....	49
6.4.5.	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	49
6.4.6.	Microrganismos a 30 °C.....	49
6.4.7.	Bolores e Leveduras .....	50
6.5.	<i>Crithmum maritimum</i> - Adição de extrato e biomassa após a coagulação (lote 5).....	50
6.5.1.	Cor .....	50
6.5.2.	pH, $a_w$ , Extrato Seco, Gordura e Proteína. ....	53
6.5.3.	Atividade antioxidante .....	54
6.5.4.	<i>E. coli</i> .....	55
6.5.5.	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i> .....	55
6.5.6.	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	55
6.5.7.	Microrganismos a 30 °C.....	55
6.5.8.	Bolores e leveduras.....	56
6.6.	<i>Crithmum maritimum</i> – Adição de extrato e biomassa antes da coagulação – teste preliminar (lote 6) 56	
6.6.1.	Cor .....	56
6.6.2.	pH .....	57
6.7.	<i>Crithmum maritimum</i> - Adição de extrato e biomassa antes da coagulação (lote 8) .....	57
6.7.1.	Cor .....	57
6.7.2.	pH, $a_w$ , Extrato Seco, Gordura e Proteína .....	60
6.7.3.	Atividade Antioxidante .....	61
6.7.4.	<i>E. coli</i> .....	62
6.7.5.	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i> .....	62
6.7.6.	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	62
6.7.7.	Microrganismos a 30 °C.....	63
6.7.8.	Bolores e Leveduras .....	63
6.8.	Efeito dos métodos de fabrico nos parâmetros químicos (pH, $a_w$ , extrato seco, gordura e proteína).....	64
6.8.1.	Adição de <i>Helichrysum picardii</i> .....	64
6.8.2.	Adição de <i>Crithmum maritimum</i> .....	64
<b>7.</b>	<b>Conclusões .....</b>	<b>66</b>
<b>8.</b>	<b>Perspetivas futuras.....</b>	<b>67</b>
<b>9.</b>	<b>Referências.....</b>	<b>68</b>

Anexos.....	84
Anexo A - Lote 4 – Variável dependente L.....	84
Anexo B - Lote 4 – Variável dependente pH .....	88
Anexo C - Lotes 4 e 7 – variável dependente pH.....	93

## Índice figuras

Figura 4.1. <i>H. picardii</i> – LUISA CUSTÓDIO® .....	9
Figura 4.2. <i>C. maritimum</i> - LUISA CUSTÓDIO® .....	10
Figura 5.1. Primeiro corte em linhas cruzadas. ® ANA CARVALHO .....	27
Figura 5.2. Segundo corte em forma de oitos. ® ANA CARVALHO.....	28
Figura 5.3. Massa da coalhada, 30 minutos após o segundo corte (camada de soro à superfície) ® ANA CARVALHO.....	28
Figura 5.4. Diagrama de blocos da produção do queijo fresco (Fonte: elaboração própria). ....	29
Figura 5.5. Diagrama de blocos da produção do queijo fresco (Fonte: elaboração própria). ....	30
Figura 6.1 <i>H. picardii</i> – adição de extrato e biomassa após a coagulação (lote 4). (C0) Controlo, t=0; (C7) Controlo, t=7 dias; (C14) Controlo, t=14 dias; (B0) Biomassa, t=0; (B7) Biomassa, t=7 dias; (B14) Biomassa, t=14 dias; (E0) Extrato, t=0; (E7) Extrato, t=7 dias; (E14) Extrato, t=14 dias.® ANA CARVALHO .....	42
Figura 6.2 <i>H. picardii</i> – adição de extrato e biomassa antes coagulação (lote 7). (C0) Controlo, t=0; (C4) Controlo, t=4 dias; (C8) Controlo, t=8 dias; (B0) Biomassa, t=0; (B4) Biomassa, t=4 dias; (B8) Biomassa, t=8 dias; (E0) Extrato, t=0; (E4) Extrato, t=4 dias; (E8) Extrato, t=8 dias. ® ANA CARVALHO.....	47
Figura 6.3 <i>C. maritimum</i> – adição de extrato e biomassa após a coagulação (lote 5). (C0) Controlo, t=0; (C4) Controlo, t=4 dias; (C8) Controlo, t=8 dias; (B0) Biomassa, t=0; (B4) Biomassa, t=4 dias; (B8) Biomassa, t=8 dias; (E0) Extrato, t=0; (E4) Extrato, t=4 dias; (E8) Extrato, t=8 dias. ® ANA CARVALHO .....	52

## Índice tabelas

Tabela 4.1. Comparação da composição centesimal dos leites bovino, caprino e ovino (Fonte: Guerra <i>et al.</i> , 2008). .....	7
Tabela 4.2. Critérios de Higiene do Processo - Leite e produtos lácteos (Regulamento 1441/2007).....	20
Tabela 4.3. Critérios de segurança dos géneros alimentícios (Regulamento 1441/2007). .....	21
Tabela 5.1. Lotes produzidas.....	31
Tabela 6.1 Rendimento obtido em cada uma das produções (B – biomassa adicionada antes da coagulação; C – controlo – sem adição de planta; E – extrato adicionado antes da coagulação). .....	39
Tabela 6.2 Teste de Concentração de biomassa – <i>H. picardii</i> adicionado após a coagulação (lote 2). .....	39
Tabela 6.3 Avaliação de Cor. Teste com <i>H. picardii</i> adicionado após a coagulação (Lote 4) (Tempo de duração: 14 dias).....	41
Tabela 6.4 Resultados das análises químicas (pH, aw, extrato seco e gordura) – Teste com <i>H.</i> <i>picardii</i> adicionado após a coagulação (Lote 4) (Tempo de duração: 14 dias). .....	43

Tabela 6.5 Pesquisa para microrganismos a 30 °C. Teste com <i>H. picardii</i> adicionado após a coagulação (Lote 4) (Tempo de duração: 14 dias) .....	44
Tabela 6.6 Pesquisa para Fungos. Teste com <i>H. picardii</i> adicionado após a coagulação (Lote 4) (Tempo de duração: 14 dias).....	45
Tabela 6.7 Avaliação de Cor. Teste com <i>H. picardii</i> adicionado antes da coagulação (Lote 7) (Tempo de duração: 8 dias).....	46
Tabela 6.8 Resultados das análises químicas (pH, aw, extrato seco e gordura). Teste com <i>H. picardii</i> adicionado antes da coagulação (Lote 7) (Tempo de duração: 8 dias).....	48
Tabela 6.9 Pesquisa para Microrganismos a 30 °C. Teste com <i>H. picardii</i> adicionado antes da coagulação (Lote 7) (Tempo de duração: 8 dias). .....	49
Tabela 6.10 Pesquisa para Fungos. Teste com <i>H. picardii</i> adicionado antes da coagulação (Lote 7) (Tempo de duração: 8 dias). .....	50
Tabela 6.11 Avaliação de Cor. Teste com <i>C. maritimum</i> adicionado após a coagulação (Lote 5) (Tempo de duração: 8 dias).....	51
Tabela 6.12 Resultados das análises químicas (pH, aw, extrato seco, gordura e proteína). Teste com <i>C. maritimum</i> adicionado após a coagulação (Lote 5) (Tempo de duração: 8 dias). .....	53
Tabela 6.13 Atividade antioxidante (%) de queijo (Lote 5) funcionalizado com extrato e biomassa de <i>C. maritimum</i> , determinada pelo método de DPPH. ....	54
Tabela 6.14 Pesquisa para <i>E. coli</i> . Teste com biomassa de <i>C. maritimum</i> adicionado após a coagulação (Lote 5) (Tempo de duração: 8 dias) .....	55
Tabela 6.15 Pesquisa para Microrganismos a 30 °C. Teste com <i>C. maritimum</i> adicionado após a coagulação (Lote 5) (Tempo de duração: 8 dias). .....	56
Tabela 6.16 Pesquisa para Fungos. Teste com <i>C. maritimum</i> adicionado após a coagulação (Lote 5) (Tempo de duração: 8 dias) .....	56
Tabela 6.17 Análise de cor para teste preliminar com <i>C. maritimum</i> antes da coagulação.....	57
Tabela 6.18 Análise de pH para teste preliminar com <i>C. maritimum</i> antes da coagulação. ....	57
Tabela 6.19 Avaliação de Cor. Teste com <i>C. maritimum</i> adicionado antes da coagulação (Lote 8) (Tempo de duração: 8 dias).....	59
Tabela 6.20 Resultados das análises químicas (pH, a <sub>w</sub> , extrato seco, gordura e proteína). Teste com <i>C. maritimum</i> adicionado antes da coagulação (Lote 8) (Tempo de duração: 8 dias).....	61
Tabela 6.21 Atividade antioxidante (%) de queijo (Lote 8) funcionalizado com extrato e biomassa de <i>C. maritimum</i> , determinada pelo método de DPPH. ....	62
Tabela 6.22 Pesquisa para Microrganismos a 30 °C. Teste com <i>C. maritimum</i> adicionado antes da coagulação (Lote 8) (Tempo de duração: 8 dias). .....	63
Tabela 6.23 Pesquisa para Fungos. Teste com <i>C. maritimum</i> adicionado antes da coagulação (Lote 8) (Tempo de duração: 8 dias) .....	63
Tabela 6.24 Comparação entre os dois métodos de produção. Adição de biomassa e extrato antes e depois da coagulação. ....	64

## Lista de abreviaturas

AOAC - *Association of Official Analytical Chemists*

ABTS - *2,20 -azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)*

BHT - Hidroxitolueno Butilado

CCMAR – Centro de Ciência do Mar

CCS – Contagem de Células Somáticas

DRAALG – Direção Regional da Agricultura do Algarve

FCT – Faculdade de Ciência e Tecnologia

FDA – *Food and Drug Administration*

INE - Instituto Nacional de Estatística

ISO – *International Organization for Standardization*

NP – Norma Portuguesa

PHAC – *Public Health Agency of Canada*

RSA - *Radical Scavenging Activity*

SPREGA – Sociedade Portuguesa de Recursos Genéticos Animais

TBARS – *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico)

## 1. Introdução

Atualmente, existe uma tendência global para o crescimento do consumo de produtos alimentares considerados saudáveis, usando aditivos naturais, seja como conservante, como ingredientes funcionais ou ambos. Os produtores de alimentos podem produzi-los com valor acrescentado, mas usando aqueles com os quais os consumidores já estão familiarizados, como é o caso do queijo (Mukdsi *et al.*, 2013; Marchiani *et al.*, 2016).

O queijo de cabra é valorizado pelo seu valor nutricional, fácil digestibilidade e baixas propriedades alergénicas (Mukdsi *et al.*, 2013; Caleja *et al.*, 2015) e até mesmo, pelo seu valor terapêutico na nutrição humana (Mukdsi *et al.*, 2013; Díaz-Castro *et al.*, 2012).

Por outro lado, algumas espécies de plantas halófitas têm vindo a ser muito procuradas pela indústria alimentar, devido às suas propriedades organoléticas e nutricionais, apresentando um elevado valor comercial. Algumas apresentam propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antidiabéticas e neuro protetivas (Barreira *et al.*, 2017). A utilização de extratos de plantas como conservantes, tem-se revelado ingredientes inovadores, com características de qualidade interessantes em termos de nutrição humana (Dupas *et al.*, 2020).

O presente trabalho foi realizado no âmbito da elaboração de uma Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia dos Alimentos, ministrado no Instituto Superior de Engenharia da Universidade do Algarve. Enquadra-se num projeto de investigação financiado pela FCT (projeto *GreenValue*), coordenado pela Doutora Luísa Custódio, investigadora do CCMAR, que visa utilizar plantas halófitas no processamento de alimentos.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivos gerais**

- Obter queijo fresco de cabra enriquecido com plantas halófitas selecionadas, cuja presença possa contribuir para a conservação e/ou melhoria de algumas propriedades funcionais, mantendo uma boa aparência.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Testar métodos de processamento utilizando 2 halófitas adicionadas sob a forma de biomassa e extrato e em diferentes momentos do processo;
- Avaliar as alterações de pH,  $a_w$ , cor, extrato seco, gordura, proteínas e atividade antioxidante em diferentes tempos de armazenamento e para as duas plantas, adicionadas em diferentes formas e momentos;
- Avaliar a qualidade microbiológica dos queijos produzidos ao longo do tempo de armazenamento.

### **3. Organização da dissertação**

O corpo do presente trabalho encontra-se estruturado em 9 capítulos. O capítulo 1 refere-se à introdução. No capítulo 2, se encontram os objetivos gerais e específicos do trabalho. No capítulo 3, está descrita a organização do mesmo. Relativamente ao capítulo 4, fez-se o enquadramento técnico-científico, por meio de uma revisão de literatura, onde se abordam questões ligadas ao queijo e as análises pertinentes ao tema. No capítulo 5, são apresentadas as etapas da fase experimental, através das metodologias usadas. O capítulo 6 tem por objetivo apresentar os principais resultados obtidos e fazer a discussão desses resultados. No capítulo 7, são apresentadas as principais conclusões, no capítulo 8 são apresentadas as perspectivas futuras e no capítulo 9 estão apresentadas as referências bibliográficas que foram utilizadas. Por fim, apresentam-se os anexos.



## **4. Revisão bibliográfica**

### **4.1. A cabra**

#### **4.1.1. Origem e história**

A origem da cabra domesticada remonta por volta 9.000 a.C., e a mesma é considerada a primeira espécie ruminante da pecuária. Ganha destaque por ser um animal de extrema utilidade, uma vez que devido a criação das cabras, os humanos podem viver em áreas que antes seriam consideradas zonas despovoadas (Zeder e Hesse, 2000; Hatziminaoglou e Boyazoglu, 2004; Hinson, 2015).

Para além da sua utilidade em termos de povoação de áreas, os caprinos tiveram e têm uma função específica para os homens, nomeadamente produzir alimentos (leite e carne) e fornecer abrigo e proteção (couro) (Vieira, 2015).

Fonseca, em seu trabalho “Avaliação da Raça Serpentina nos seus Sistemas de Produção” (2015), alega que os caprinos são animais mais adaptáveis em zonas marginais, de baixa fertilidade de solos. Segundo o autor, isso ocorre devido às características diferenciadoras que possuem, sendo elas: capacidade de pastar de forma seletiva, ingerindo as partes mais nutritivas das plantas; pastoreio próximo do chão, devido ao tamanho reduzido da boca e mobilidade ampliada dos lábios, que atuam como pequenos beliscões nos alimentos; consumo de vegetação lenhosa; a destreza acrobática que possuem, sendo inclusive, possível trepar em árvores e colocarem-se em posição bipedal; baixa ingestão hídrica, devido ao seu baixo peso em comparação, por exemplo, a bovinos e capacidade de produzir reservas adiposas, as quais atuam como fonte energética em situações de escassez.

No decorrer dos séculos, a cabra tem sido considerada como um animal demasiado independente e destruidor. Estas ideias nada mais são do que estereótipos que fundamentam características e comportamentos deste animal. Ironicamente, são estas características que a tornam um animal tão apreciado pelos ciprincultores (Loforte, 2017).

#### **4.1.2. Criação de cabras em Portugal**

Para os países mediterrânicos, a produção de caprinos é uma questão económica, ambiental e sociológica de muita importância. A análise dos sistemas de produção de pequenos ruminantes torna-se difícil, devido à elevada variedade de espécies utilizadas, às produções de leite, carne ou leite e carnes e à intensidade da terra usada (Rancourt *et al.*, 2005).

Em Portugal, oficialmente reconhecidas, existem 6 raças caprinas nativas: Bravia, Serrana (Transmontano, Jarmelista, Serra e Ribatejano), Preta de Montesinho, Charnequeira (Beiroa e Alentejana), Serpentina e Algarvia (Carolino *et al.*, 2017).

A maior parte dos sistemas de produção caprina utiliza superfícies agrícolas de baixa produção, recorrendo a recursos agrossilvopastoris, os quais dificilmente seriam aproveitáveis por outras espécies.

As raças caprinas portuguesas são influenciadas pelas de origens étnicas que antecedem à fundação da nacionalidade; por um comércio de caprinos que acontecia principalmente com a Espanha; por cruzamentos com raças diferentes que aconteciam sucessivamente; pelas condições do relevo e alimentação, além da evolução dos sistemas de produção (Duque, 1988).

O rebanho mundial de caprinos atinge um número superior a 1 bilhão de cabeças, sendo a Ásia o continente que mais se destaca. Portugal apresenta um efetivo de 368 mil cabeças de caprinos, encontrando-se 15 mil no Algarve (INE, 2020a).

Em 2015, o efetivo caprino (constituído por 78,6% por cabras) estava espalhado por todo o país: Alentejo (25,9%), Beira Interior (17,1%), Trás-os-Montes e o Ribatejo e Oeste (cada uma com 12,8%), Entre Douro e Minho (12,3%) e, ainda, Beira Litoral (12,1%). Semelhante aos ovinos, o efetivo caprino vem diminuindo desde 2005. Entre os anos 2006-2013, a quebra foi de cerca de 77 000 animais. Esta diminuição deve-se especialmente às explorações de pequenas dimensões por conta da idade avançada dos proprietários e, também, pela falta de formação e de meios (GPP, 2015 e Sobral *et al.*, 2014).

Globalmente, a produção leiteira em 2018 atingiu o número de 1978 milhões de litros, o que significou um aumento de 1,0% em relação ao ano anterior. No contexto caprino, o volume de leite (27,1 milhões de litros) aumentou em 8,8% (maior produtividade dos animais leiteiros). Quando se fala em produção de queijo de cabra, os números tiveram um aumento de 29,7%, equivalendo a um total de 3,8 mil toneladas, o que significou uma reversão de tendência de diminuição que se tinha vindo a verificar (INE, 2018).

Nacionalmente, a produção de leite de cabra no ano de 2020 foi de aproximadamente 25434 mil litros (INE, 2020b). Relativamente à produção anual de queijo de cabra, em Portugal, foi de 3611 toneladas no ano de 2020 (INE, 2020c).

#### **4.1.3. Criação de cabras no Algarve - Desempenho produtivo**

Na região do Algarve, a raça autóctone (cabra Algarvia) tem grande relevância na produção de leite, uma vez que é bem-adaptada às condições difíceis da zona. Até 2015, pode-se verificar uma diminuição do efetivo pecuário. Em 2013, a cabra algarvia contava

com um efetivo de 3.997 animais, uma redução de cerca de 20% quando comparado a 2000, onde o efetivo era de cerca de 5.000 animais (IESE, 2015).

Em 2020, de acordo com a Sociedade Portuguesa de Recursos Genéticos Animais (SPREGA), o efetivo da cabra algarvia é de 2813 cabeças. As quais produzem cerca de 166 litros de leite por lactação.

Mesmo possuindo um valor de mercado considerado alto e da procura da cabra algarvia, a dificuldade em competir com outras fontes de rendimento e a grande dureza do trabalho, tem influenciado diretamente numa marginalidade crescente da atividade pastoril com base na pequena exploração familiar (IESE, 2015).

#### **4.1.4. Leite de cabra**

O leite de cabra define-se como sendo o produto resultante da ordenha completa e ininterrupta realizada em condições de higiene, a partir de animais da espécie caprina que se encontrem sadios, bem alimentados e descansados (Magalhães, 2005).

Considerado um alimento ideal para o consumo humano, o leite de cabra apresenta alta digestibilidade, sendo uma excelente opção para pessoas alérgicas à proteína do leite de vaca. Esta maior digestibilidade do leite caprino deve-se ao alto percentual de ácidos graxos de cadeia curta e média, o que facilita a digestibilidade e favorece o esvaziamento gástrico, e isto traz o benefício de diminuir o surgimento de refluxo gastro esofágico (Silva *et al.*, 2007; Haenlein, 2004).

Tanto em parâmetros biológicos quanto nutricionais, o leite de cabra supera o de vaca, devido não somente, como já referido anteriormente, à sua maior digestibilidade, mas, também, por suas características dietéticas, sendo por essas razões altamente recomendado para crianças, adultos e idosos que sejam sensíveis à proteína do leite de vaca (Chandan *et al.*, 1992; Haenlein, 2004; Park *et al.*, 2007).

##### **4.1.4.1. Características físico químicas**

A alimentação, a espécie ou fase de lactação do animal afeta diretamente a composição do leite. Basicamente, o leite é constituído por água (87%), lípidos (em geral, triglicerídeos), hidratos de carbono (sobretudo a lactose), proteínas (principalmente caseínas), vitaminas e minerais (Roque, 2014).

As diferenças entre o leite de cabra e o de vaca ocorrem maioritariamente na composição e estrutura da gordura e da proteína (Park *et al.*, 2007).

Relativamente ao teor de gordura, a diferença genética representa valores entre 2,0% a 8,0% de gordura para o leite de cabra (Haenlein, 2004).

Muitos animais são criados para produzir leite para o consumo humano. Na Tabela 4.1., pode-se verificar as principais diferenças na composição centesimal entre os leites de origem bovina, caprina e ovina.

O teor médio de gordura do leite de cabra recolhido em Portugal continental no ano de 2020 foi de 4,28% (INE, 2020d).

Tabela 4.1. Comparação da composição centesimal dos leites bovino, caprino e ovino (Fonte: Guerra *et al.*, 2008).

<b>Características</b>	<b>Leite Bovino</b>	<b>Leite Caprino</b>	<b>Leite Ovino</b>
EST <sup>1</sup> (%)	12,59 ±0,69	12,71 ±0,81	17,87 ±2,07
Gordura (%)	3,57 ±0,92	3,89 ±0,68	5,88 ±2,49
Proteína (%)	3,27 ±0,3	3,23 ±0,38	4,38 ±0,53
Lactose (%)	5,18 ±0,15	4,20 ±0,22	4,85 ±0,15
Acidez em AL <sup>2</sup> (%)	0,18 ±0,02	0,18 ±0,02	0,15 ±0,006
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	1033,74 ±0,79	1030,2 ±0,00	-
Cinzas (%)	0,53 ±0,08	0,69 ±0,03	0,85 ±0,04

<sup>1</sup>Extrato Seco Total; <sup>2</sup>Ácido Láctico

Os parâmetros indicadores de qualidade do leite de cabra asseguram, para além da qualidade, a identidade e a constância do produto o qual tem como destino o mercado consumidor e, também, permite a identificação de falhas que podem ocorrer nos processos de produção, armazenamento e transporte do leite (Magalhães, 2005).

#### **4.1.4.2. Características microbiológicas**

A capacidade de sobrevivência e/ou multiplicação de microrganismos em um alimento pode ser afetada por vários fatores. Os que se relacionam com as características do próprio alimento (fatores intrínsecos) são as de maior destaque, a saber: pH, acidez, atividade de água ( $a_w$ ), presença de nutrientes, etc. (Azeredo, 2012).

Todas as etapas do processamento (ordenha, armazenamento, transporte, beneficiamento e comercialização) devem ser consideradas, uma vez que o leite é um excelente meio de cultura para o desenvolvimento bacteriano (Magalhães, 2005).

Entre os parâmetros legalmente definidos e controlados, as contagens de microrganismos a 30 °C e de células somáticas (CCS) são as de uso mais universal, utilizados como indicadores técnicos e critérios de aceitabilidade e de pagamento do leite ao produtor (Pires *et al.*, 2015).

Em Portugal, o número de bactérias deve ser inferior a  $10^5$  ufc/ml no momento da entrega na fábrica. Relativamente à temperatura, durante a exploração, o leite tem de ser recolhido a temperaturas que sejam menores que 6 °C, e quando for entregue na fábrica, a temperatura não deve ultrapassar os 10 °C (Ribeiro, 2008).

#### **4.1.4.3. Características organoléticas**

Compreendem as características organoléticas do leite: cor, odor, sabor e aspeto geral.

O leite de cabra deve ser um líquido branco, puro, de odor e sabor suave e agradável. Não possuindo nenhum cheiro específico ou desagradável. Quando possui tais características, significa que foi recolhido em más condições de higiene (Vieira, 1986).

A cor branca deve-se à inexistência de  $\beta$  – caroteno, uma vez que o mesmo é convertido na sua totalidade em vitamina A, tornando-o mais branco do que o leite de vaca (Park *et al.*, 2006).

A composição do leite, coagulação, corte e condições de maturação refletem-se diretamente nas características organoléticas do queijo (Kongo e Malcata, 2016).

#### **4.1.4.4. Características Nutricionais**

O leite caprino é considerado um dos alimentos mais completos para seres humanos, uma vez que em sua composição encontram-se todos os componentes necessários para o consumo humano: proteínas, lípidios, açúcares, sais minerais, vitaminas, enzimas e água (Paz *et al.*, 2007).

Praticamente todas as vitaminas conhecidas são constituintes do leite, e o de cabra, quando comparado ao de vaca, possui maior teor de vitamina A, apresenta uma concentração cinco vezes menor de ácido fólico e vitamina B12 (Haenlein, 2004; Park *et al.*, 2007).

E, por isso, é considerado bastante importante na nutrição de crianças e idosos, devido a esta alta digestibilidade, sendo seu uso indicado para pessoas alérgicas ao leite de vaca. É considerado uma excelente fonte de cálcio, fósforo e magnésio biodigestíveis, pois possui maiores quantidades desses minerais na forma solúvel (Silva *et al.*, 2007; Slačanac *et al.*, 2010).

Os alimentos funcionais são os alimentos ou ingredientes que, além de fornecerem nutrição básica, possuem constituintes benéficos, sendo utilizados nas dietas de modo convencional, uma vez que demonstram efeitos benéficos no tocante às funções corporais, auxiliando na prevenção do diabetes, hipertensão, câncer, osteoporose e cardiopatias (Danner *et al.*, 2006).

## **4.2. Plantas Halófitas**

As plantas halófitas, ou seja, plantas tolerantes ao sal, crescem em uma ampla variedade de *habitats* salinos (regiões costeiras, pântanos salgados, desertos interiores, salinas e estepes). O interesse por essas espécies tem crescido principalmente pelo seu alto teor de compostos bioativos como, por exemplo, ácidos graxos polinsaturados,

carotenoides, vitaminas, esteróis, óleos essenciais (terpenos), polissacarídeos, glicosídeos e compostos fenólicos, os quais exibem atividades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e antitumorais e, portanto, atuam na prevenção de várias doenças e processos de envelhecimento, podendo considerar-se ingredientes funcionais. A literatura botânica diz que um grande número de plantas medicinais halófitas são muito utilizadas nas zonas rurais, onde a medicina popular tradicional tem um papel significativo na cura de pequenos males (Ksouri, *et al.*, 2011).

#### **4.2.1 *Helichrysum picardii***

Conhecidas como “eternas”, as plantas *Helichrysum* (*Asteraceae*) têm usos medicinais relatados desde os primeiros séculos, apresentando propriedades referidas como diuréticas, além de serem usadas para tratar distúrbios urinários, queimaduras, picadas venenosas ou hérnias (Viegas *et al.*, 2014).

*Helichrysum italicum* subsp. *picardii* é uma halófita que é encontrada na região do Mediterrâneo, cresce em encostas rochosas ensolaradas, em fendas de rocha e em torno de áreas arenosas. Podendo atingir cerca 60 cm de altura, seus caules são de madeira na base, e as folhas são arranjadas alternadamente. A floração ocorre no início do verão, altura em que as plantas formam inflorescências amarelas específicas (Tutin *et al.*, 1976).

As suas infusões e decocções apresentam alto e diversificado conteúdo polifenólico, com potencial antioxidante, moderado potencial antidiabético e baixa toxicidade em modelos *in vitro*. Estas plantas possuem um elevado potencial comercial no que concerne à exploração enquanto bebidas funcionais (Pereira, 2017).



Figura 4.1. *H. picardii* – LUISA CUSTÓDIO®

#### **4.2.2 *Crithmum maritimum***

Conhecido como funcho do mar, o *Crithmum maritimum* L. (*Apiaceae*) é uma planta halófita facultativa que cresce em falésias marítimas e, por vezes, na areia. É bastante distribuído ao longo das áreas costeiras do Mar Mediterrâneo e do Oceano Atlântico, e

é utilizado tanto como um ingrediente alimentar, como na medicina popular, há muito tempo (Coiffard, 1991).

Suas folhas suculentas e ramos jovens são usados como condimentos através de conservas feitas em vinagres. Suas sementes contêm uma composição de ácidos graxos similar ao azeite de oliva, o que as torna comestíveis e muito apreciadas. Esta planta apresenta diversos interesses econômicos, pois possui um alto teor em flavonóides, carotenóides, vitamina C e substâncias com propriedades medicinais e antimicrobianas (Ben Amor *et al*, 2005).

Pereira *et al.* (2017), em sua pesquisa sobre atividade antioxidante e composição fenólica e mineral em infusões e decoções feitas a partir folhas e flores de *C. maritimum*, concluiu que a mesma possui um alto potencial antioxidante, bem como um perfil mineral e fenólico interessante. Podem, também, ser consideradas bebidas atóxicas. Dessa forma, chegaram à conclusão que os chás de ervas de folhas e flores de funcho do mar são um excelente recurso para a indústria alimentícia.

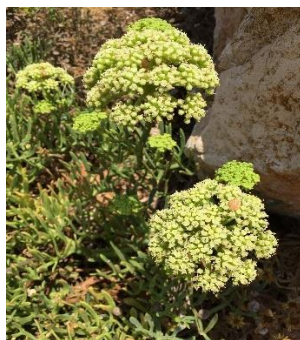


Figura 4.2. *C. maritimum* - LUISA CUSTÓDIO®

### 4.3. Queijo

O queijo é um dos derivados de leite mais comuns, o qual é produzido a partir de leite cru ou pasteurizado de vaca, ou outras espécies como ovelhas e cabras (Mahieddine *et al.*, 2017).

#### 4.3.1. Origem, história e evolução

A teoria mais aceita acerca do surgimento do queijo é que ocorreu no crescente fértil entre os rios Tigres e Eufrates, no Iraque, há 8.000 anos, durante a chamada revolução agrícola, que aconteceu com a domesticação de plantas e animais (Paula *et al.*, 2013).

De acordo com Fox *et al.* (2004), durante o período da domesticação de cabras e ovelhas, os pastores observaram, acidentalmente, que quando o leite se tornava ácido ocorria uma separação em massa e soro, o resultado dessa massa moldada e mais seca era um alimento nutritivo e de fácil obtenção. Essa coalhada ácida possuía uma

estabilidade de armazenamento que aumentava significativamente quando desidratada e salgada.

Existe ainda outra teoria, que diz que antes da utilização das cerâmicas (aproximadamente 5.000 anos a.C.), era comum estocar o leite em bolsas feitas de peles ou estômagos de animais, desse modo o leite entraria em contato com enzimas coagulantes do tecido animal aonde aconteceria o processo de coagulação (Fox *et al.*, 2004).

A 23 de Janeiro de 2019 foi publicado o Aviso (extrato) n.º 3895/2019, segundo o qual o género alimentício "Queijo fresco tradicional", produzido de acordo com a norma portuguesa NP 1921:1985 "Queijo fresco tradicional: Definição, características, classificação e marcação", foi reconhecido como "alimento com características tradicionais" e/ou "obtido com métodos de produção tradicional", ao abrigo do disposto no artigo 2.º do Despacho Normativo n.º 9/2015, de 11 de junho.

Este despacho normativo reconhece como “alimentos com características tradicionais” ou obtidos com “métodos de produção tradicional” aqueles que tenham utilização no mercado nacional comprovada por um período que permita a transmissão entre geração de, pelo menos, 30 anos.

Quanto à origem do queijo de cabra no Algarve, a história remonta há muitos séculos atrás, quando as cabras existentes nas terras serranas se destacavam por serem dos poucos animais capazes de se adaptarem à pouca disponibilidade dos recursos. Neste cenário, o queijo tem uma relação íntima com a população local, uma vez, que era uma maneira de se conservar o leite. Uma curiosidade é o fato de o início da produção de queijo se dar em janeiro, já que durante o Natal ocorriam as vendas dos cabritos, vendas essas que eram de extrema importância para o rendimento familiar, por isso só passado essa época é que o leite estaria disponível para a produção do queijo (Direção Geral de Desenvolvimento Rural, 2001).

#### **4.3.2. Definição e composição**

Por definição, o queijo é um concentrado lácteo constituído de proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas, entre elas A e B. Considerado um dos alimentos mais nutritivos que se conhece, possui aproximadamente 48% de gordura, cerca de 23-25 % de proteína o que significa que, 210 g de queijo equivalem a 300 g de carne em termos de proteína. Durante a coagulação, o papel dos minerais está relacionado com a textura do queijo. O lactossoro é o líquido residual, a maior parte dele é eliminado durante o processo de fabricação e aproveitado como matéria-prima na produção de iogurtes, ricota e outros produtos (Perry, 2004).



O queijo fresco deverá ser obrigatoriamente fabricado com leite pasteurizado, qualquer que seja a fêmea produtora do leite utilizado no seu fabrico. Considera-se

queijo o produto fresco ou curado, de consistência variável, obtido por coagulação e dessoramento do leite ou do leite total ou parcialmente desnatado, mesmo que reconstituído, e também da nata, do leitelho, bem como da mistura de alguns ou de todos estes produtos, incluindo o soro (NP-1598, 1983:1).

Ainda segundo a NP-1598 de 1983, o queijo pode ser classificado como queijo sem adição de géneros alimentícios diferentes do queijo ou com adição de géneros alimentícios diferentes do queijo (como é caso das plantas halófitas). Relativamente à sua consistência, a classificação feita em função da percentagem de humidade dita que o queijo fresco é um queijo de pasta mole, por conter mais de 67% de humidade, quando isento de matéria gorda. Quanto à matéria gorda (a classificação feita em função da percentagem de matéria gorda no extrato seco), o queijo fresco pode caracterizar-se como pouco gordo, por conter percentagens de gordura entre 10 e 25%.

Os queijos frescos de cabra que são altamente consumidos, possuem uma fabricação simples, são comercializados rapidamente e apresentam, em comparação a outros queijos, baixo custo (Sangatelli, 2007). Costumam apresentar uma forma cilíndrica baixa e não possuem crosta. Para além disso, apresentam um aroma e paladar suaves e bastantes inconfundíveis (Drago, 2019).

### **4.3.3. Tecnologia de fabrico**

De acordo com uma Portaria emitida pelo governo de Portugal, entretanto revogada por regulamentação, mas ainda não substituída por outra, para além do leite podem ser utilizados para o processo de fabrico de queijo

um coagulante adequado ao fabrico de queijo, entendendo-se como tal o coalho animal ou qualquer outra enzima coagulante, não prejudicial à saúde do consumidor, com ajuda dos quais, por si só, ou em mistura, se pode fabricar o queijo; [...] sal comum, purificado ou refinados [...] especiarias, aromatizantes naturais ou seus equivalentes de síntese e outros condimentos vegetais, desde que confirmem caracteres organolépticos próprios (Portaria 73, 1990:436).

A coagulação, acidificação, dessoramento do grão (sinérese), encinchamento e salga são as principais etapas do processo de fabrico do queijo. As intervenções realizadas nessas etapas têm uma influência direta na qualidade final do produto (Paula *et al.*, 2013).

Basicamente, a produção de coalhada de queijo é um processo de concentração, onde, por aproximadamente 10 vezes, a gordura e a caseína do leite são concentradas, enquanto as proteínas do soro, a lactose e os sólidos solúveis são removidas com o soro. Os queijos coagulados por ação de ácido e calor são, em geral, consumidos frescos. Neste período de tempo, ocorrem mudanças microbiológicas, químicas e físicas que influenciam no sabor, aroma e textura do queijo em questão (Fox *et al.*, 2015).

A etapa de pasteurização é fundamental no fabrico do queijo fresco. Os binómios que devem ser aplicados na pasteurização podem ser de uma temperatura elevada durante um período curto de tempo (pelo menos 72 °C durante 15 segundos) ou uma temperatura baixa durante um longo período de tempo (pelo menos 63 °C durante 30 minutos), ou ainda, por outra combinação com efeito equivalente (Regulamento (CE) nº 1662/2006).

Ainda de acordo com Fox *et al.* (2015), o processo de salga ocorre em todos os queijos, podendo ser feito de várias formas, entre elas pela mistura no leite, na coalhada seca, esfregando o sal na superfície do queijo prensado ou pela imersão em salmoura. São várias as funções do sal no queijo, destacando-se a influência que possui na atividade da água dos queijos, tendo um efeito importante no crescimento e sobrevivência de microrganismos. Por influenciar na atividade enzimática, afeta diretamente a maturação do queijo; promove o dessoramento do grão (sinérese); influencia no sabor do queijo e contribui para o consumo recomendado de sal na dieta.

A coagulação enzimática do leite envolve a modificação das micelas de caseína, através de uma limitada proteólise realizada por protéases selecionadas, chamadas de coalho, após isso se dá uma agregação induzida por cálcio das micelas alteradas pelo coalho. Este processo é seguido pela separação da coalhada do soro, a qual é colocada em cinchos, para que ocorra o escorrimento do soro residual e forme-se uma massa que é submetida ao seu próprio peso. Quando se deseja obter um queijo de menor umidade, elas são pressionadas (Fox *et al.*, 2015).

De acordo com o Regulamento (CE) nº 853/2004, imediatamente após a ordenha, o leite deve ser mantido em local limpo, concebido e equipado de modo a evitar qualquer contaminação. Deve ser arrefecido imediatamente, não excedendo os 8 °C, no caso de a recolha ser feita diariamente, ou não excedendo os 6 °C, caso a recolha não seja feita diariamente. Durante o transporte, deve ser mantida a cadeia de frio e, à chegada ao estabelecimento de destino, a temperatura do leite não deve ser superior a 10 °C. Após a receção, o leite deve ser rapidamente arrefecido a uma temperatura não superior a 6 °C e mantido a essa temperatura até ser transformado.

#### **4.3.4. Controlo de qualidade**

De acordo com a Direção Regional da Agricultura do Algarve, o controlo deve ser efetuado em dois níveis,

o primeiro pelos serviços oficiais o qual deve ser realizado 1 vez ao ano, no mínimo, e deve verificar se a aplicação da regulamentação do rebanho, instalações, condições de fabrico e comercialização estão conforme com a legislação em vigor, recolhendo-se nesta visita amostras de leite e queijo para análise; e por último pelo próprio produtor, através de um *checklist* de autocontrolo, a qual verifica a qualidade higiénico-sanitária do queijo, prevenindo acidentes durante o processo de fabrico. Normalmente, ocorrem análises laboratoriais, que se aplicam em 2 níveis, para avaliar a qualidade: físico-química - pretende conhecer o valor nutricional, se houve adulteração do produto e o estado de frescura do mesmo através do uso de equipamentos laboratoriais; Microbiológica - indica-nos se o produto oferece níveis aceitáveis de higiene e nos garante se não há possibilidade de transmissão de doenças através do seu consumo (DRAALG, 2005:39).

##### **4.3.4.1. Controlo físico-químico**

O queijo é bastante suscetível a sofrer alterações de cunho bioquímico e microbiológico, pelo fato de apresentar um alto teor de humidade, valor de pH, e por ser altamente manipulado durante o processo de fabrico, o que pode gerar alterações na qualidade, rendimento e tempo de conservação útil do mesmo (Perry, 2004).

##### **Rendimento queijeiro**

Segundo Paolo *et al.* (2008), a definição de rendimento queijeiro nada mais é do que a quantidade de queijo (kg), que se obtêm a partir de 100 kg de leite. Assim sendo, quanto maior for o percentual de sólidos do leite recuperados, maior será a quantidade de queijo, o que significa dizer que maior será o rendimento e, portanto, a rentabilidade financeira do processo.

Quanto maior o valor de extrato seco total, melhor será o rendimento durante a transformação tecnológica para obtenção do queijo (Faria, 2016).

## Cor

A cor é um atributo visual, sem existência material, que causa um estímulo físico captado pela visão e codificado no cérebro, produzindo uma sensação em quem observa (Pedrosa, 2003). A cor pode variar em três dimensões: tonalidade (intervalo da longitude de uma onda); brilho (luminosidade, o que faz a cor parecer mais clara); e saturação (a pureza da cor). Deve ser sempre utilizada a mesma fonte de luz e método de iluminação, para que as condições sejam padronizadas (Carrilha e Guiné, 2010).

O sistema **L a b** ou sistema CIELab é o mais usado para medição de cor, e apresenta três coordenadas retangulares: **L** diz se a cor é mais clara (100) ou mais escura (0), variando do branco ao preto; o atributo de tonalidade cromática **a** define a cor vermelha para valores positivos e a cor verde para valores negativos, e o **b** define a cor amarela para valores positivos e a cor azul para valores negativos (Carrilha e Guiné, 2010; Barros 2014). A saturação é correspondente ao raio do círculo de tonalidade que vai do cinza do eixo de luminosidade, até à cor pura do espectro, que fica na parte extrema do círculo. É dessa forma que se expressa a variável **C**, que é importante para caracterizar a cor e um atributo quantitativo que vai de 0 a 60 (Autran e Gonzalez, 2006).

As cores possuem a capacidade de estimular sensações, determinar comportamentos e provocar reações corporais e psicológicas (Crepaldi, 2006), pelo que constituem um critério importante usado para avaliar a qualidade do queijo, uma vez que é considerada pelo consumidor nas suas decisões de compra (Dias *et al.*, 2012; Carrilha e Guiné (2010); Cobucci, 2010; Santo *et al.*, 2013; Kubo *et al.*, 2013). Quando a cor do produto não vai ao encontro daquilo que é esperado pelo consumidor, quer seja pela diferença de tonalidade ou pela intensidade, vai constituir um fator de resistência (Ferreira *et al.*, 2000).

A cor do queijo resulta da penetração da luz nas camadas superficiais e da sua captura pelos glóbulos de gordura e pelas bolsas de soro (Lemay *et al.*, 1994; Paulson, McMahon e Oberg, 1998). A homogeneização aumenta o número de glóbulos de gordura, aumentando os centros de captação e assim aumentando a luminosidade (Everett e Auty, 2008). Este aumento de luminosidade pode contribuir para aumentar a perceção da cor branca (Fife, McMahon e Oberg, 1996). A tendência para o verde é característica dos queijos com baixo teor de gordura, onde o reduzido tamanho dos glóbulos de gordura permite que a cor do soro seja revelada (Fife, McMahon e Oberg, 1996).

A cor amarelada dos produtos lácteos tem origem, principalmente, em pigmentos lipossolúveis, os carotenoides, provenientes da dieta animal. No caso das cabras, o leite é mais pobre nestes elementos, o que torna o queijo mais claro que o de vaca, fator que é, muitas vezes, determinante da maior aceitabilidade por parte de certos consumidores (Park, *et al.*, 2006; Fox e McSweeney, 1998; Fox *et al.*, 2000; Fuquay *et al.*, 2011).

Ao longo do tempo de vida do queijo, a exposição à luz induz a degradação de lípidos, proteínas e vitaminas, causando a mudança de cor, o que prejudica a qualidade dos produtos e a sua comercialização (Nollet e Toldrá, 2010).

### **Potencial de Hidrogénio (pH)**

Introduzido pelo bioquímico Soren Sorensen, em 1909, o termo potencial hidrogeniônico ou potencial de hidrogênio (pH), é uma medida físico-química que indica se uma solução é ácida, neutra ou alcalina (Magri, 2015).

Para a caracterização de queijos, considera-se o pH de alta importância pois o mesmo tem influência em aspetos como: textura, atividade microbiana e maturação, uma vez que as reações químicas catalisadas por enzimas do coalho e da microbiota dependem diretamente do pH (Sousa *et al.*, 2014).

### **Atividade da água ( $a_w$ )**

Atividade da água ( $a_w$ ) é a relação entre a pressão de vapor de água exercida pela água em um sistema alimentar (P) e a da água pura ( $P_0$ ) na mesma temperatura:  $a_w = P/P_0$ .

Juntamente com a temperatura e o pH, a atividade da água é um dos principais parâmetros de avaliação das alterações químicas, bioquímicas e microbiológicas que ocorrem nos alimentos, uma vez que uma  $a_w$  elevada favorece o desenvolvimento da maioria dos microrganismos. Em queijos, a importância da atividade da água se dá pela sua grande influência nos processos de conservação e maturação, pois a mesma afeta diretamente a atividade enzimática, a sobrevivência e o crescimento de microrganismos, fatores que afetam diretamente a estabilidade e segurança alimentar, assim como o sabor e a textura do queijo (Fox *et al.*, 2015).

### **Extrato seco**

A designação Extrato Seco é aplicada para o resíduo material que permanece no recipiente depois da evaporação de uma amostra de água e a posterior secagem completa a uma temperatura definida, por norma,  $101 \pm 1$  °C (NP 3544:1987).

Tanto para o leite quanto para os seus derivados, o extrato seco é uma fração de importância na sua qualidade e no seu perfil nutricional. A indústria de laticínios apresenta parâmetros bem definidos relativamente ao teor de extrato seco. São vários os métodos de análises físico-químicas para leite e derivados estabelecidos como oficiais, redigidos por órgãos como a AOAC (Corrêa, 2016).

## **Gordura**

A gordura é de suma importância relativamente à geração do aroma, sabor e textura dos queijos. Quando em excesso, a mesma proporciona uma coagulação mais lenta, maior período de maturação, maior rendimento e menor resistência a ambientes adversos. Em contrapartida, quando possui pouca gordura, obtém-se um queijo com pasta dura e período de maturação lento. Além de ajudar na cor, na consistência e no sabor final do queijo, promove uma melhor retenção da humidade, diminuindo assim as perdas por desidratação durante a cura, armazenamento e comercialização. O valor energético na dieta alimentar é de fundamental importância, uma vez que possui aspetos negativos ou positivos que influenciam diretamente a saúde dos consumidores. O teor de gordura do leite sofre variações que estão relacionadas à dieta do animal, as quais refletem no teor de sólidos totais (Pinho e Ferreira, 2006; Fernandes 2013; Faria, 2016; Gomes e Souza, 2012).

## **Proteínas**

Relativamente ao teor proteico do leite de cabra, sabe-se que o mesmo é bastante similar ao leite de vaca, apresentando apenas diferenças mínimas. A caseína organiza-se em forma de micelas (menores que as micelas do leite de vaca) e apresenta baixos níveis de caseína alfa-S1 (principal agente causador de alergia ao leite de vaca). O teor de proteína sofre pouca influência no que tange a dieta do animal, pois cerca de 55% da variabilidade na composição do leite é de origem genética (Gomes e Souza, 2012).

Uma das razões do bom impacto nutricional dos queijos é resultado da sua elevada concentração de proteínas. A presença de aminoácidos essenciais nas proteínas dos queijos concede-lhes um alto valor biológico e uma alta digestibilidade. A caseína é a proteína mais presente no queijo, entre elas, a  $\alpha$  – caseína,  $\beta$  – caseína,  $\kappa$  – caseína entre outras (Pinho e Ferreira, 2006).

## **Atividade Antioxidante**

Um antioxidante pode ser definido como uma substância, seja ela sintética ou natural, que ao ser adicionada a produtos, previne ou retarda a deterioração pela ação do oxigênio do ar (Halliwell *et al.*, 1995).

O estresse oxidativo e os radicais livres constituem uma preocupação no que se refere à homeostasia do organismo, uma vez que quando o processo não é devidamente regulado, pode contribuir para o surgimento de várias doenças crónicas e degenerativas. Sendo então capazes de estabilizar ou mesmo desativar radicais livres, evitando e

reduzindo danos celulares, o que contribui diretamente para a manutenção da saúde (Valko *et al.*, 2006; Rodrigues *et al.*, 2020).

Dia após dia, tem sido observada uma tendência cada vez maior em consumir produtos antioxidantes ou anti-inflamatórios, que sejam provenientes de alimentos naturais ou componentes bioativos dietéticos para fins relacionados à saúde. As plantas halófitas são adaptadas aos mais variados estresses abióticos, entre eles, a alta salinidade, a intensidade UV e a seca. Parte disso se deve à síntese e acúmulo de moléculas primárias e secundárias bioativas, que possuem um importante valor nutritivo e propriedades biológicas relevantes, como por exemplo, atividade antioxidante e antiparasítica. Plantas como *H. Italicum* subsp. *picardii* têm um alto potencial comercial a ser explorado, não só na medicina tradicional, mas também como bebidas funcionais à base de plantas na categoria alimentos saudáveis (Oliveira *et al.*, 2021; Lu e Yen, 2014; Pereira, 2017).

Relativamente a *C. maritimum*, Siracusa *et al.* (2011) referem atividade antioxidante significativa nas infusões da planta, verificando-se uma boa capacidade de neutralização de radicais livres quando comparada com antioxidantes comerciais.

#### **4.3.4.2. Controlo microbiológico**

Na indústria de alimentos, a contaminação microbiológica representa não só um grande risco para a saúde do consumidor, como também pode gerar prejuízos econômicos significativos. Dada a matéria-prima que é utilizada e o alto teor de umidade nos locais de produção, os laticínios são suscetíveis a esse tipo de contaminação. Por isso, é de extrema importância a implantação de programas de boas práticas de fabricação e do controle permanente dos processos e seus pontos críticos (Sistema HACCP) (Perry, 2004).

Sendo pasteurizado ou cru, o leite com boa qualidade microbiológica é essencial para a preparação de bons queijos.

Nos queijos existem tanto microrganismos desejáveis quanto indesejáveis. Os primeiros contribuem para as características organolépticas, de conservação e higiênico-sanitárias do queijo. Por norma, quando há presença de microrganismos patogênicos eles são resultado de contaminações causadas por uma higiene inadequada (Veiga, 2012).

Como estabelecido no Regulamento 2073/2005, posteriormente alterado pelo Regulamento 1441/2007, os critérios microbiológicos aplicados aos géneros alimentícios dão orientações quanto à aceitabilidade dos géneros alimentícios, bem como dos seus processos do fabrico, pelo que fazem parte da aplicação de medidas de controlo de higiene e do próprio sistema HACCP.

Não se tratando, no caso deste trabalho, de verificar se os lotes de queijos produzidos estavam em condições de ser comercializados, o plano de amostragem indicado nos “critérios microbiológicos aplicáveis a géneros alimentícios” (Regulamento 1441/2007) não foi cumprido, mas os microrganismos indicados para controlo foram analisados.

Assim sendo, foram avaliados os “critérios de higiene do processo, que indicam se o processo de produção funciona de modo aceitável, estabelecendo um valor de contaminação indicativo, acima do qual se tornam necessárias medidas corretivas para preservar a higiene do processo” (Regulamento 2073/2005) (Tabela 4.2).

Foram, ainda, avaliados os “critérios de segurança dos géneros alimentícios, que definem a aceitabilidade de um produto” (Regulamento 2073/2005). Neste caso, “alimentos prontos para o consumo suscetíveis de permitir o crescimento de *Listeria monocytogenes*, exceto os destinados a latentes e a fins medicinais específicos” (Regulamento 1441/2007) (Tabela 4.3).

Para além daqueles que são critérios legais estabelecidos para os estabelecimentos comerciais, decidiu-se fazer uma análise mais genérica da carga microbiana, enumerando os microrganismos a 30 °C e os bolores e leveduras.

### ***Escherichia coli***

Há muitos anos, os grupos de coliformes a 35 °C e a 45 °C colonizadores do trato intestinal de animais de sangue quente são aplicados como indicadores de qualidade higiénica. Mesmo existindo contestações com relação aos microrganismos mais representativos da qualidade sanitária de um produto alimentício, os coliformes e em particular, *Escherichia coli* têm ganhado mais atenção (Almeida e Franco, 2003).

Coliforme é um termo geral utilizado para bactérias Gram-negativas, anaeróbias, facultativas, que apresentam forma de bastonetes. Este grupo possui espécies dos géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter*. *E. coli* do grupo *Enterobacteriaceae* é uma bactéria Gram-negativa, que não possui endósporos, anaeróbia facultativa, que entre as bactérias coliformes, é considerada a espécie que mais eficazmente indica contaminação fecal e a possível presença de patógenos entéricos (Forsythe, 2002).



Tabela 4.2. Critérios de Higiene do Processo - Leite e produtos lácteos (Regulamento 1441/2007)

Categoria de Alimentos	Microrganismos	Plano de Amostragem		Limites		Método de Análise de Referência	Fase em que o critério se aplica	Medidas em casa de resultados insatisfatórios
		n	c	m	M			
<b>2.2.2. Queijo fabricado com leite ou soro de leite que tenha sido submetido a tratamento térmico</b>	<i>E. coli</i> <sup>(1)</sup>	5	2	100 ufc/g	1 000 ufc/g	ISO 16649-1 ou 2	Durante o processo de fabrico, no momento em que se prevê que o número de <i>E. coli</i> seja mais elevado <sup>(2)</sup>	Melhoria da higiene na produção e da seleção de matérias- -primas
<b>2.2.5. Queijo de pasta mole não curado (queijo fresco) fabricado com leite ou soro de leite que tenha sido submetido a tratamento térmico mais elevado <sup>(3)</sup></b>	Estafilococos coagulase positivos	5	2	100 ufc/g	100 ufc/g	EN/ISO 6888-1 ou 2	Fim do processo de fabrico	Melhoria da higiene na produção. Se se detetarem valores >105 ufc/g, o lote de queijo deve ser testado para deteção de enterotoxinas estafilocócicas

Notas: (1) A *E. coli* é aqui utilizada como indicador do nível de higiene. (2) Nos queijos não suscetíveis de permitir o crescimento de *E. coli*, o número de *E. coli* é habitualmente mais elevado no início do período de cura. Nos queijos suscetíveis de permitir o crescimento de *E. coli*, esse número é habitualmente mais elevado no final do período de cura. (3) Excluindo os queijos em relação aos quais o fabricante puder demonstrar, a contento das autoridades competentes, que o produto não apresenta qualquer risco de enterotoxinas estafilocócicas.

Tabela 4.3. Critérios de segurança dos géneros alimentícios (Regulamento 1441/2007).

Categoria de Alimentos	Microrganismos	Plano de Amostragem		Limites	Método de Análise de Referência	Fase em que o critério se aplica
		n	c			
<b>1.2. Alimentos prontos para consumo suscetíveis de permitir o crescimento de <i>L. monocytogenes</i>, exceto os destinados a lactentes e a fins medicinais específicos</b>	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	Ausência em 25 g (1)	EN/ISO 11290-1	Antes de o alimento deixar de estar sob o controlo imediato do operador da empresa do sector alimentar que o produziu

Nota: (1) Este critério é aplicável aos produtos antes de deixarem de estar sob o controlo imediato do operador da empresa do sector alimentar que os produz, se este não puder demonstrar, a contento da autoridade competente, que o produto não excederá o limite de 100 ufc/g até ao termo do período de conservação útil.

*E. coli* é uma espécie que inclui bactérias que habitam nos intestinos dos mamíferos. A ingestão de alimentos ou líquidos com certos tipos de *E. coli* pode levar a doenças gastrointestinais leves ou graves. Alguns tipos de *E. coli* patogênicos podem ser fatais (FDA, 2019).

Pacientes, geralmente, têm um início abrupto de diarreia que não contém sangue, pus ou muco, sendo, por norma, leve a moderada em gravidade. Alguns pacientes podem ter perda severa de fluído, além de febre de baixa, náusea e dor abdominal que também podem estar presentes. A desidratação pode se tornar grave ou fatal em recém-nascidos e crianças. A contaminação ocorre principalmente pela rota fecal-oral e é mais comum em países em desenvolvimento, que carecem de instalações adequadas de saneamento e tratamento de água potável. O modo de transmissão mais importante é a água potável contaminada e mal tratada. Por isso, é importante um controlo higiênico sanitário no momento de manipular alimentos (Tabela 4.2) (PHAC, 2011).

Relativamente à deterioração de queijos, as bactérias do grupo coliforme (entre as quais *E. coli*) são consideradas como principais agentes causadores de contaminação levando a fermentações anormais e o que leva a opar precocemente as embalagens dos produtos (Almeida e Franco, 2003).

### ***Staphylococcus coagulase positiva***

Entre as mais variadas espécies do gênero *Staphylococcus*, a mais relevante na microbiologia de alimentos é *Staphylococcus aureus*. São anaeróbios facultativos, fermentam carboidratos e causam proteólise (Amorim, 2013).

Segundo Forsythe (2002), *S. aureus* é uma bactéria esférica (coco), Gram-positiva, que causa uma variedade de doenças, incluindo pústulas e furúnculos. Com relação as doenças de origem alimentar, está principalmente relacionada com a produção de termoenterotoxinas (estáveis ao calor), causadoras de vômitos.

Por ser considerada uma bactéria com alta versatilidade nutricional e com capacidade de crescer em diferentes condições ambientais, *S. aureus* é capaz de desenvolver-se com facilidade em vários alimentos (Santana *et al.*, 2010).

*S. aureus* apresenta distribuição mundial, onde uma parcela da população é portadora da bactéria e assintomática. Nestas circunstâncias, os portadores humanos, mesmo em condições normais de saúde, continuam a ser um perigo durante a manipulação de alimentos, uma vez que podem contaminá-los durante as diferentes fases de preparação, através das mãos e secreções oro-nasais. Razões pela qual é muito importante fazer o seu controlo (tabela 4.2) (Sandi, 2004).

O leite cru pode ser contaminado através do próprio animal, pelas mãos do ordenhador, pelos equipamentos de ordenha e o próprio ambiente da sala de ordenha. A presença de *S. aureus* no leite cru é um grande problema de saúde pública, pois a mesma possui um alto risco de transmissão para o consumidor, já que as mesmas são resistentes tanto ao tratamento térmico quanto às enzimas proteolíticas (Lucheis, 2012).

### ***Listeria monocytogenes***

*Esta* bactéria causa uma doença chamada listeriose. É amplamente encontrada no ambiente, além de contaminar a maioria dos alimentos e pode crescer a temperaturas de refrigeração o que torna um desafio o seu controle na cadeia de produção de alimentos (IDF, 2013).

*Listeria monocytogenes* é uma bactéria Gram-positiva, não formadora de endósporos. Se movimenta através de flagelos e multiplica-se em temperaturas entre 0 e 42 °C, ou seja, *L. monocytogenes* pode multiplicar-se, ainda que lentamente, sob temperaturas de refrigeração. Os surtos de listeriose são bastante raros, estando associados a um certo número de alimentos (incluindo queijo), que podem propiciar a multiplicação de *L. monocytogenes* e podem ser consumidos sem tratamento posterior (Forsythe, 2002).

De acordo com os regulamentos e políticas do *Codex Alimentarius* em alimentos prontos para consumo que suportam o seu crescimento, faz-se necessário sua ausência em cinco amostras de 25 g, a não ser que o fabricante possa comprovar que os números não ultrapassam a 100 ufc/g durante todo o prazo de validade declarado do produto (Tabela 4.3) (Regulamento 1441/2007).

Tanto o leite como os seus derivados podem ser contaminados com *L. monocytogenes* nas várias etapas da cadeia alimentar, podendo ter sua origem nas fezes dos animais de ordenha, no ambiente geral do fabrico de alimentos ou mesmo por infecção do úbere (Pintado *et al.*, 2009).

### **Microrganismos a 30 °C**

Os microrganismos totais a 30 °C são dos indicadores de qualidade dos alimentos mais genéricos e abrangentes, indicando a adequação da temperatura e o controlo do saneamento do processamento, transporte e armazenamento (Herrera, 2001).

Desenvolvem-se numa vasta gama de temperaturas intermédias, tendo o seu crescimento ótimo entre os 30 °C e os 45 °C. As temperaturas mínimas situam-se entre os 5 °C e os 15 °C e as máximas entre os 35 e os 47 °C (FDA, 2009).

A contagem dos microrganismos mesófilos pode ser utilizada para avaliar a qualidade higiénica, para determinar a aceitabilidade organoléptica, para verificar a aplicação de

boas práticas de fabrico e, ainda, como indicador de segurança. Fornece informação sobre matérias-primas, condições de processamento, de armazenamento e de manipulação dos alimentos (Downes e Ito, 2001).

Para controlar a multiplicação deste género de microrganismo, a refrigeração do leite deve ter uma temperatura inferior ou igual a 4 °C (Santana *et al.*, 2010).

### **Bolores e leveduras**

Os fungos, conhecidos também como bolores e leveduras, são organismos eucariotos heterotróficos, que possuem parede celular rígida e podendo ser uni ou multicelulares. Em condições favoráveis, os esporos germinam e produzem hifas que podem invadir sementes, grãos e outros substratos (Borges, 2013).

Algumas espécies de fungos são utilizadas na produção de penicilina, queijos, e etc. No entanto, há espécies que são responsáveis pela deterioração de materiais, e também causam algumas doenças em seres vivos (Adams *et al.*, 2016).

As leveduras se diferenciam dos bolores por serem unicelulares, apresentando-se sob as formas esférica, ovóide e elipsóide (Adams *et al.*, 2016).

Os leites fermentados e iogurtes são, comumente, deteriorados pela ação de leveduras. O que favorece o seu aparecimento em queijos é o baixo pH e o perfil nutricional, características estas que aumentam as chances de multiplicação de leveduras deteriorantes. Quando embalados em vácuo ou em atmosferas modificadas, as embalagens podem inchar devido a grande quantidade de CO<sub>2</sub> produzida por leveduras (Ledenbach e Marshall, 2009).

#### **4.3.5. Tempo de conservação útil**

Segundo o *Codex Alimentarius*, o tempo de conservação útil de um produto alimentar designa o intervalo de tempo no qual o alimento preserva a sua inocuidade e idoneidade microbiológicas, desde que seja armazenado à temperatura indicada no rótulo (FAO/OMS, 2009).

Os fatores que podem influenciar diretamente no tempo de conservação útil de um alimento são atividade da água, pH e carga microbiana inicial do produto, condições inadequadas de armazenamento e manuseio e material de embalagem inadequado para o produto. Parâmetros químicos e microbiológicos, propriedades organolépticas ou avaliações sensoriais dos alimentos são utilizadas para estudar o tempo de conservação útil de um produto alimentar (Amritkar, 2016).

Com relação à data de validade na indústria, utilizam-se duas expressões: “consumir de preferência até”, data após a qual o produto pode permanecer seguro, entretanto já não se pode garantir a qualidade ótima do mesmo, e “consumir até”, período após o qual o gênero alimentício já pode comprometer a saúde do consumidor. No caso do queijo fresco, o termo a aplicar é “consumir até” devido à sua perecibilidade por degradação microbiológica (Braz, 2017).

O queijo é considerado um produto pertencente ao grupo de produtos lácteos com maior diversidade, uma vez que apresenta uma série de formatos, texturas, sabores e aromas, os quais resultam de protocolos de fabricação e maturação específicos. As condições ambientais ao longo do manuseio e armazenamento e as suas complexas composições são responsáveis pelo desenvolvimento fúngico e bacteriano descontrolado e extenso em sua superfície. Todas essas situações diminuem a sua qualidade e causam riscos aos consumidores, gerando um impacto no tempo de conservação útil do queijo (de Oliveira, 2007).

Existem formas de se aumentar o tempo de conservação útil de um produto alimentar. De acordo com o regulamento nº1333/2008, os aditivos autorizados para os queijos que podem ajudar para o controle de alterações são sorbatos, nisina, ácido acético, ácido cítrico e fosfatos. Vale ainda ressaltar que existem outras maneiras de contribuir para o aumento o tempo de conservação útil de um gênero alimentício, como, por exemplo, tratamentos térmicos, atmosfera modificada, o tipo de embalagem, adição de ervas aromáticas, aplicação de estirpes microbianas que produzem bacteriocinas ou mesmo a adição direta de bacteriocinas, entre outras opções. Estas possibilidades podem variar quanto à atuação, ao modo de aplicação, à sua eficácia, ao custo, entre outros fatores, e têm peculiaridades que podem limitar a sua aplicação em função do gênero alimentício (Braz, 2017).

## **5. Metodologia**

### **5.1. Colheita de material vegetal e processamento da biomassa**

A biomassa foi fornecida pelo laboratório XtremeBio do Centro de Ciências do Mar do Algarve (CCMAR), da Universidade do Algarve. A biomassa fresca das espécies *C. maritimum* e *H. picardii* foi colhida de plantas adultas nas praias do Garrão e do Ancão (Algarve), respetivamente, em outubro de 2020. As plantas foram congeladas e desidratadas em um liofilizador, durante 3 dias. A biomassa seca foi depois reduzida a pó e guardada em tubos Falcon, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente.

### **5.2. Preparação das infusões (extrato)**

Para a preparação das infusões, 1 g de biomassa seca foi adicionada a 200 ml de água destilada, em ebulição, durante 5 minutos. A infusão foi depois filtrada e liofilizada (Pereira *et al.*, 2017).

### **5.3. Determinação da atividade antioxidante**

A determinação da atividade antioxidante das infusões foi feita através do método de ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-acidosulfónico)) (Wang *et al.*, 2008). Para tal, uma solução estoque do radical catiónico ABTS (7,4 mM) foi gerada a partir da reação de ABTS (7,4 mM) com persulfato de potássio (2,6 mM), durante 16 horas no escuro e a 4°C. A solução de ABTS obtida foi depois diluída com etanol para obtenção de uma absorvância de 0,7 a 734 nm (Biotek Synergy 4). Para o ensaio, as amostras de extrato (10 µl em concentrações entre 0 e 10 mg/mL) foram misturados com 190 µl de ABTS em microplacas de 96 poços, e após 6 minutos de incubação a absorvância foi medida a 734 nm (Biotek Sinergia 4). Os resultados foram expressos como atividade antioxidante (%) em relação a um controle contendo etanol, e como EC50, ou seja, a concentração de antioxidante necessária para neutralizar 50% dos radicais de ABTS. Como controlo positivo foi utilizado o BHT (1 mg ml<sup>-1</sup>).

### **5.4. Aquisição do leite**

O leite foi adquirido na Queijaria Martins, Portela da Nave, Salir (Algarve).

### **5.5. Processamento do queijo**

Nos dias de produção do queijo de cabra, foi feita a desinfecção dos equipamentos e utensílios utilizados usando uma solução de álcool etílico hidratado 70 INPM, para evitar contaminação cruzada. Luvas, máscaras e toucas descartáveis foram usados com a

mesma intenção. Foram utilizados dois métodos de processamento do queijo: biomassa e extrato adicionado antes e após a coagulação.

### **5.5.1. Planta (biomassa e extrato) adicionadas após coagulação**

Procedeu-se ao aquecimento do leite até 75 °C durante 1 minuto, seguindo-se um período de arrefecimento até à temperatura de 35 °C. Atingida esta temperatura, procedeu-se à adição do sal (12 g por litro) e, finalmente, do coagulante (Coalho Britex Liq) na forma líquida (30 gotas por litro).

Deixou-se o leite coagular em banho-maria, a uma temperatura de 35 °C, durante 30 minutos. Depois deste período, fez-se o primeiro corte da coalhada.

O corte da coalhada realizou-se de forma manual, sendo o primeiro corte realizado em linhas cruzadas (Figura 5.1). Após o primeiro corte, a coalhada permaneceu em repouso durante 30 minutos, ao fim dos quais se efetuou o segundo corte em formato de 8 (Figura 5.2). Após o segundo corte, a coalhada permaneceu cerca de 30 minutos em repouso, permitindo a formação de uma camada de soro livre à superfície (Figura 5.3).



*Figura 5.1. Primeiro corte em linhas cruzadas. © ANA CARVALHO*





*Figura 5.2. Segundo corte em forma de oitos. © ANA CARVALHO*



*Figura 5.3. Massa da coalhada, 30 minutos após o segundo corte (camada de soro à superfície) © ANA CARVALHO*

No final deste período procedeu-se ao enchimento manual de cinchos perfurados (encinchamento da coalhada). Os queijos seguiram, então, dentro dos cinchos, para armazenamento refrigerado. O processo de fabrico descrito, está representado na figura 5.4. Quer a biomassa, quer o extrato, foram adicionados durante o processo de encinchamento.

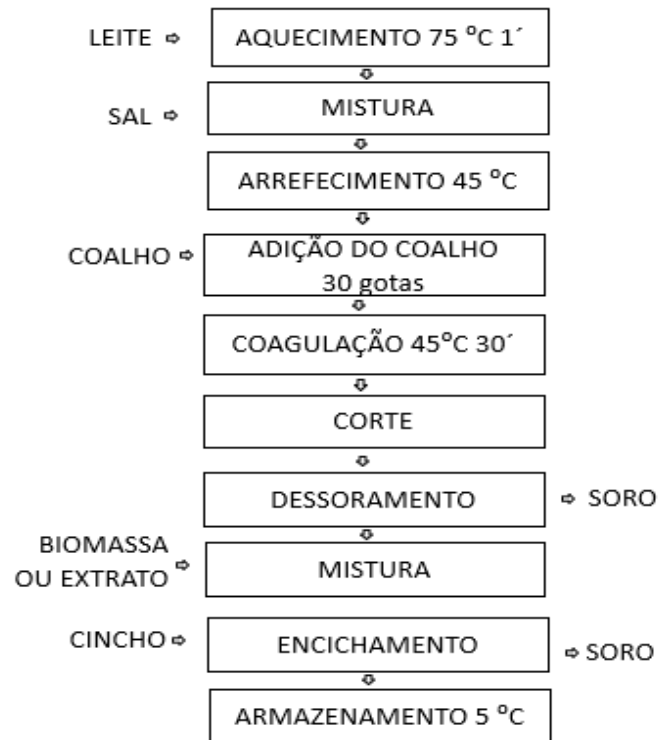


Figura 5.4. Diagrama de blocos da produção do queijo fresco (Fonte: elaboração própria).

Para determinar a quantidade de biomassa de *H. picardii* a utilizar é necessário determinar o rendimento de cocção (razão entre massa do extrato obtida e a biomassa utilizada). Sabe-se que, por cada 2000 mg de biomassa, se obteve 200 mg de extrato, logo o rendimento de cocção é 10%. Com este resultado e o valor conhecido do EC<sub>50</sub> 2,20 -azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) (0,22 mg/ml), obtém-se uma concentração de biomassa de 2200 mg/L de leite. Logo, se um litro de leite produz 250 g de queijo, obtém-se uma concentração de 0,880 g por 100 g de queijo. Em testes preliminares (tabela 6.2), concluiu-se que a partir de 0,5151 g por 100 g de queijo este já apresenta um sabor amargo, pelo que se reduziu para metade o valor obtido. Usaram-se 0,440 g de biomassa por 100 g de queijo, o que estava dentro da gama de valores que apresentam um sabor agradável.

O extrato de *H. picardii* usado tem um EC<sub>50</sub> de 220 mg/L. De acordo com Caleja *et al.* (2015) para determinar a quantidade do extrato, o valor EC<sub>50</sub> é multiplicado por três, obtendo-se 660 mg/L para 250 g de queijo (1 L leite). Neste trabalho produziram-se queijos de 100 g, utilizando-se, portanto, 0,264 g/queijo.

Para determinar a quantidade de biomassa de *C. maritimum* a utilizar, determinou-se o rendimento de cocção (35%) e o EC<sub>50</sub> ABTS (0,16 mg/mL), obtendo-se uma concentração de 457 mg/L. De acordo com Caleja (2015), este valor deve ser multiplicado por três, obtendo-se assim, 1371 mg/L de biomassa para produzir 250 g, ou seja, 0,548 g para 100 g de queijo, que foi a quantidade de queijo produzida por amostra para este trabalho.

Para determinar a quantidade de extrato de *C. maritimum* utilizado, multiplicou-se o EC<sub>50</sub> por três, obtendo-se o valor de 480 mg/L para 250 g de queijo, o que significa que para 100 g a quantidade usada foi 0,192 g.

### 5.5.2. Planta (biomassa e extrato) adicionadas antes da coagulação

Neste método, a planta (biomassa ou extrato) foi adicionada após o arrefecimento do leite e antes da adição do coagulante. Seguiu-se, então, o processo de produção descrito no ponto 5.5.1. e apresentado no diagrama de blocos da figura 5.5. A quantidade de extrato/biomassa foi a mesma descrita no ponto 5.5.1.

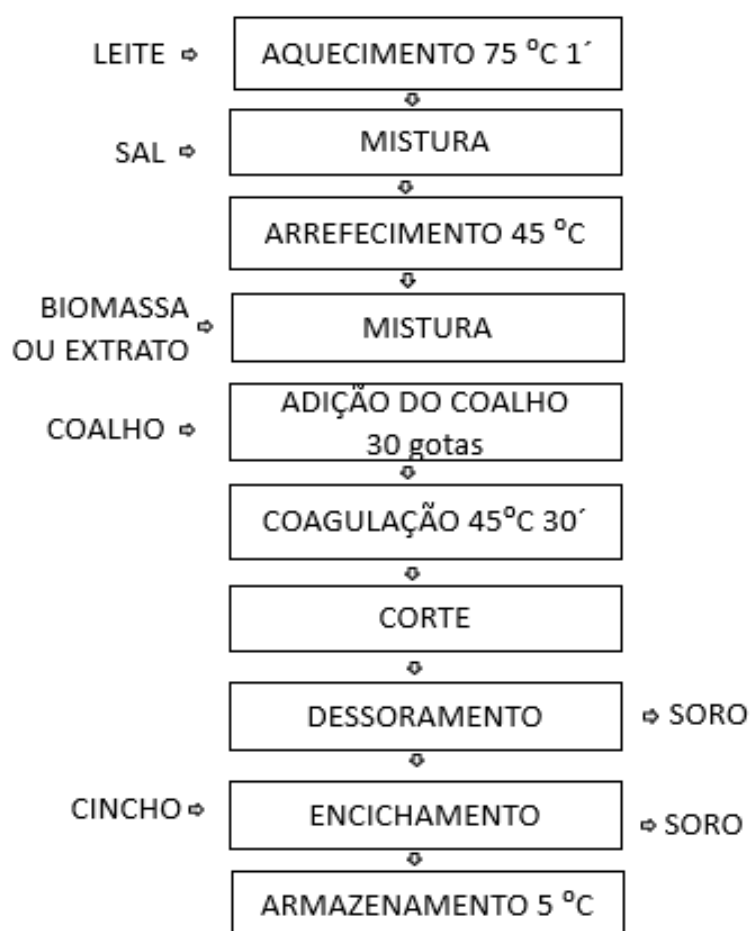


Figura 5.5. Diagrama de blocos da produção do queijo fresco (Fonte: elaboração própria).

## 5.6. Lotes produzidos

No decorrer deste trabalho foram produzidos 8 lotes com diferentes condições (Tabela 5.1.).

Tabela 5.1. Lotes produzidas

Lote	Planta Adicionada	Biomassa/Extrato	Método de Produção
1	-	-	Sem adição
2	<i>H. picardii</i>	Biomassa	Adição após coagulação
3	<i>H. picardii</i>	Biomassa/Extrato	Adição após coagulação
4	<i>H. picardii</i>	Biomassa/Extrato	Adição após coagulação
5	<i>C. maritimum</i>	Biomassa/Extrato	Adição após coagulação
6	<i>C. maritimum</i>	Biomassa/Extrato	Adição antes da coagulação
7 (B; C; E)	<i>H. picardii</i>	Biomassa/Extrato	Adição antes da coagulação
8 (B; C; E)	<i>C. maritimum</i>	Biomassa/Extrato	Adição antes da coagulação

Considerou-se que cada lote é constituído pelos queijos produzidos sob as mesmas condições. No caso em que a adição das plantas foi feita antes da coagulação, cada lote deu origem a 3 sub-lotes (C - controlo, B - com adição de biomassa e E - com adição de extrato). Apesar desta terminologia (sub-lote) não ser utilizada na escrita da dissertação, fica bem patente pelas inúmeras referências a “controlo”, biomassa” e “extrato”. O lote 1 serviu essencialmente para treinar a tecnologia de fabrico do queijo e o lote 2 serviu para testes preliminares para a determinação da concentração de biomassa de *H. picardii*. Relativamente ao lote 3, não são apresentados quaisquer resultados, por terem ocorridos vários incidentes durante a realização das diferentes análises.

## 5.7. Controlo Físico-químico

### 5.7.1. Rendimento queijoiro

De acordo com Raimundo *et al.* (2015), o cálculo utilizado para se determinar o rendimento queijoiro pode ser feito a partir da quantidade de leite em litros (L) utilizada e da quantidade de queijo obtida em quilogramas (kg), e se expressa em função da unidade de massa de produto que foi obtida. Assim a determinação do rendimento do queijo foi realizada tendo como base a seguinte fórmula:

$$\eta = 100 \times m_Q / m_L$$

Em que  $\eta$  – rendimento do processo (%);  $m_Q$  – massa de queijo (kg);  $m_L$  – massa de leite (L)

A totalidade dos queijos finalizados foram pesados, bem como a massa de queijo que sobrou de cada lote. Finalizadas as pesagens, calculou-se o rendimento.

### 5.7.2. Cor

A determinação e avaliação da cor de forma instrumental foi realizada usando o sistema de coordenadas CIEL definido pela *Commission Internationale de L'Éclairage* – CIE 1976. Foi usado um colorímetro PSE-CSM 10 (Instruments LDA, UK), utilizando o iluminante D65.

No espaço colorimétrico, definido por **L**, **a**, **b**, a coordenada **L** (luminosidade) corresponde à relação entre a luz refletida e absorvida, o que faz com que se defina como o produto entre a cor preta (0 - totalidade da luz absorvida) e branca (100 - totalidade da luz refletida) (Granato e Masson, 2010); **a** varia entre -60 (verde) e +60 (vermelho) e a componente **b** varia entre -60 (azul) e +60 (amarelo) (Buffa *et al.*, 2001). Mediu-se, ainda, a cromaticidade ou saturação (**C**), que indica a intensidade ou pureza do tom, independente de quão clara ou escura é a cor. Quanto maior é o seu valor, mais intensa é a cor, parecendo luminosa ou concentrada, enquanto valores baixos (acromático) indicam a cor acinzentada, fraca ou diluída (Granato e Masson, 2010).

Foram realizadas 21 medições em cada amostra, com o aparelho previamente calibrado, usando diferentes partes do queijo. Dependendo do ensaio, foram feitas leituras nos dias 0, 7 e 14 ou nos dias 0, 4 e 8. Os queijos foram mantidos em armazenamento refrigerado a 5 °C.

### 5.7.3. pH, atividade de água ( $a_w$ ), Extrato Seco, Gordura e Proteína

O **pH** foi medido pelo método direto utilizando o potenciômetro (Crison, Instruments, S.A., Espanha). Foram realizadas 9 medições por tempo de amostragem, usando 3 queijos diferentes.

A atividade de água ( $a_w$ ) foi determinada num medidor de  $a_w$  (Rotronic Hydrolab – Rotronic AG, Bassersdorf, Switizland), termicamente estável a 25 °C. Foi colocada uma amostra do queijo numa célula de poliestireno, que se introduziu na estação de medida por 25 minutos. As medições foram realizadas em triplicatas.

A análise gravimétrica foi utilizada para obtenção do teor de **extrato Seco** total, fazendo-se uso de uma estufa convencional. Foram colocadas 3 g de amostra de queijo em uma placa de Petri, previamente seca e tarada. Após homogeneização, a amostra foi colocada em estufa a 100 °C por 24 h. Em seguida, as placas foram transferidas para exsicadores para resfriamento e seguiu-se a pesagem. A análise foi realizada em triplicata (NP 3544-1987).

Para a determinação do teor de **gordura** total, foi usado o método de Gerber, modificado por Egan *et al.* (1981). Foram homogeneizadas amostras de 3 g e pesadas diretamente em butirômetro de Van Gulik, especial para queijo. Em seguida, acrescentou-se 10 mL da solução de ácido sulfúrico, cerca de 6 mL de água ou até cobrir a amostra, e 1 mL de álcool isoamílico. Completou-se o volume do butirômetro com

água quente e transferiu-se o butirómetro para banho-maria a 65 °C, agitando-o até que se dissolva toda a amostra. Uma vez dissolvida, centrifugou-se por 5 minutos a 1100 rpm e fez-se a leitura de gordura diretamente na escala do butirómetro. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Para a análise da **proteína total**, as amostras dos queijos foram previamente liofilizadas durante três dias, e a seguir, reduzidas a pó. Este pó, devidamente pesado (1-2 mg), foi analisado através do CHN *Elemental Analyzer* (Vario EL III), o qual é capaz de medir o azoto total. O teor de proteína bruta é, então, determinado através da multiplicação do teor de azoto total encontrado pelo fator de conversão 6,38 (Gonçalves e Graça, 1985). Foram realizadas 3 medições em cada amostra para os tempos t=0 e t=4 dos lotes 5 e 8.

#### **5.7.4. Atividade Antioxidante**

Para a avaliação da atividade antioxidante dos queijos, foi feita uma extração das amostras liofilizadas, de acordo com Abderrezak (2018). Para tal, 5 g das amostras secas foram extraídas com 20 ml de etanol, durante a noite, com agitação. Os extratos foram filtrados (Whatman nº 4), centrifugados por 10 minutos, a 4000 rpm e o sobrenadante recolhido e evaporado num evaporador rotativo a 40 °C sob vácuo. A atividade antioxidante foi determinada através do método de ABTS, anteriormente descrito na seção 5.3, nos extratos em concentrações entre 0 e 200 mg/mL.

#### **5.8. Controlo microbiológico**

Por razões de higiene e segurança alimentar, fizeram-se as análises indicadas no Regulamento 1441/2007 para queijo fresco (*E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva e *L. monocytogenes*).

Existem relatos que atestam alguma atividade antimicrobiana na adição de algumas plantas ao queijo (Bukvicki *et al.*, 2018). Neste estudo, fizeram-se várias análises microbiológicas (microrganismos a 30 °C e bolores e leveduras) para verificar se ocorre alguma extensão do tempo de conservação útil nos queijos com adição de plantas, relativamente ao queijo sem adição de plantas (controlo).

##### **5.8.1. *Escherichia coli* (ISO 16649:2001)**

Para contagem da *E. coli*, foi utilizada a técnica descrita na ISO 16649-2:2001. *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of  $\beta$ -glucuronidase-positive Escherichia coli - Part 2: Colonycount technique at 44 °C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl  $\beta$ -D-glucuronide.*

No ensaio com o lote 4, fez-se amostragem no início (t=0), no meio (t=7) e no fim (t=14) do período em estudo. Nos restantes ensaios fizeram-se amostragens no início (t=0), no meio (t=4) e no fim (t=8).

### **5.8.2. *Staphylococcus* coagulase positiva (ISO 6888:2003)**

A detecção de *S. aureus* foi efetuada em Meio *Baird Parker* seguindo a técnica da ISO 6888-1:1999/AMD 1:2003 *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) — Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium — Amendment 1: Inclusion of precision data*. Genève, Suíça: International Organization for Standardization.

No ensaio com o lote 4, fez-se amostragem no início (t=0), no meio (t=7) e no fim (t=14) do período em estudo. Nos restantes ensaios fizeram-se amostragens no início (t=0), no meio (t=4) e no fim (t=8).

### **5.8.3. *Listeria monocytogenes* (ISO 11290:2017)**

Foi usada a ISO 11290-1:2017 *Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes Part 1: Detection Method*.

No ensaio lote 4, fez-se amostragem no início (t=0), no meio (t=7) e no fim (t=14) do período em estudo. Nos restantes ensaios fizeram-se amostragens no início (t=0), no meio (t=4) e no fim (t=8 dias).

### **5.8.4. Microorganismos a 30 °C (ISO 4833:2013)**

A norma 4833: 2013 *Part 1 “Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Colony-count technique at 30 °C”* foi utilizada para enumeração de microrganismos a 30 °C.

No ensaio lote 4, fez-se amostragem no início (t=0), no meio (t=7) e no fim (t=14) do período em estudo. Nos restantes ensaios fizeram-se amostragens no início (t=0), no meio (t=4) e no fim (t=8 dias).

### **5.8.5. Bolores e leveduras (ISO 21527:2008)**

Para enumeração dos fungos, foi utilizada a ISO 21527-1:2008 *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95*

No ensaio lote 4, fez-se amostragem no início (t=0), no meio (t=7) e no fim (t=14) do período em estudo. Nos restantes ensaios fizeram-se amostragens no início (t=0), no meio (t=4) e no fim (t=8 dias).

## 5.9. Plano experimental e análise de dados

Para cada ensaio, foram adquiridos 12 litros de leite, que permitiram o fabrico dos 27 queijos, 9 queijos para cada condição (adição de biomassa, adição de extrato, sem qualquer adição), sendo analisados 3 queijos em cada tempo (3 tempos).

As análises estatísticas descritivas, gráficas e inferenciais foram executadas com o software SPSS (v. 27 SPSS Inc, Chicago, IL). Apresentam-se, oportunamente, como exemplo, alguns dos *outputs* da estatística descritiva e inferencial em anexo.

Para avaliar se o tempo em conservação afetou significativamente as variáveis dependentes cor (**L**, **a**, **b**, e **C**), **pH**, **a<sub>w</sub>**, **extrato seco** e **gordura**, recorreu-se à análise de variância (ANOVA) a um fator, seguida do teste de comparações múltiplas *post-hoc* HSD de Tukey. Consideraram-se estatisticamente significativos os efeitos cujo *p-value* foi inferior a 0,05.

Para avaliar se o tempo em conservação afetou significativamente a variável dependente **proteína**, usou-se o Teste T de *Student* para amostras independentes.

O pressuposto da distribuição Normal destas variáveis dependentes, foi avaliada pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Shapiro-Wilk. Considerou-se que as variáveis apresentaram uma distribuição Normal quando o *p-value* foi superior a 0,05.

O pressuposto de homogeneidade de variância (homocedasticidade) destas variáveis dependentes foi avaliado com o teste de Levene. Considerou-se que as variáveis apresentavam variâncias homogêneas quando o *p-value* foi superior a 0,05. Nos casos em que se verificou heterocedasticidade, fez-se o teste complementar de Welch, recomendado por Lix *et al.* (1996).

A atividade antioxidante foi calculada como percentagem de redução (captação) do radical, em relação ao controlo negativo (solvente das amostras), de acordo com as fórmulas:

$$DO_r = DO_a - DO_{cc}$$

$$\% \text{ RSA} = (DO_{cn} - DO_r) / DO_{cn} \times 100$$

Em que: % RSA - % Atividade Redutora do Radical;  $DO_r$  – Absorvância real;  $DO_a$  -Absorvância da amostra;  $DO_{cc}$  -Absorvância do controlo da cor;  $DO_{cn}$  – Absorvância do controlo negativo.

Os valores de EC50 foram calculados no GraphPad Prism® versão 6.0c.



### 5.9.1. *H. picardii* – Adição de extrato e biomassa após a coagulação (Lote 4)

Nos poucos casos em que se verificou (por exemplo, queijos produzidos sem adição de plantas (**controle**), para o tempo  $t=7$  da variável dependente **L**, onde  $p=0,010$  (Anexo A, Tabela A2), queijos produzidos com adição de **biomassa** para o tempo  $t=14$  da variável dependente **L**, onde  $p=0,010$  e valores de  $a_w$  para os tempos  $t=0$  (**controle**) e  $t=7$  (**extrato**), cujos  $p<0,001$ ), os desvios à normalidade são pequenos, e uma vez que a ANOVA é robusta a violações suaves deste pressuposto (Maroco, 2010), não se procedeu a qualquer transformação matemática corretiva.

Por outro lado, apenas nos casos do **pH** nos queijos **controle** e com adição de **extrato** e do **extrato seco**, no caso dos queijos com adição de **biomassa**, houve necessidade de utilizar a correção de Welch para a ANOVA (por ex. no Anexo B, Tabela B5), como recomendado por Lix et al. (1996). Nas restantes situações, como no exemplo do Anexo A, Tabela A4, quando não se verificou homogeneidade das variâncias, a razão entre a menor e a maior variância é inferior a 1:4 e a dimensão dos grupos é superior a 5 em todos os casos, o teste paramétrico ANOVA continua a ser robusto (Maroco, 2010), pelo que foi utilizado.

### 5.9.2. *H. picardii* – Adição de extrato e biomassa antes da coagulação (Lote 7)

Nos casos em que se verificou (por exemplo queijos **controle** para o tempo  $t=0$  das variáveis dependentes **b** e **C**, onde  $p<0,001$ , queijos produzidos com adição de **biomassa** para o tempo  $t=4$  da variável dependente **b** e **C**, onde  $p=0,028$  e  $p=0,022$ , queijos produzidos com **extrato** para os tempos  $t=0$  e  $t=4$  da variável dependente **L**, onde  $p=0,0430$  e  $p=0,017$ , valores de **pH** para o tempo  $t=0$  (**controle**), onde  $p<0,001$ , valores de  $a_w$  para os tempos  $t=0$  e  $t=4$  (**biomassa**), cujos  $p<0,001$ , valores de **extrato seco** para o tempo  $t=0$  (**extrato**), onde  $p<0,001$ , e valores de **gordura** para o tempo  $t=0$  (**biomassa**), onde  $p<0,001$ ), os desvios à normalidade são pequenos, e uma vez que a ANOVA é robusta a violações suaves deste pressuposto (Maroco, 2010), não se procedeu a qualquer transformação matemática corretiva.

Por outro lado, apenas nos casos dos valores da variável dependente **pH** para todos os queijos,  $a_w$  para os queijos **controle**, **extrato seco** para os queijos **controle** e com adição de **extrato**, houve necessidade de utilizar a correção de Welch para a ANOVA como recomendado por Lix et al. (1996). Nas restantes situações, quando não se verificou homogeneidade das variâncias, a razão entre a menor e a maior variância é inferior a 1:4 e a dimensão dos grupos é superior a 5 em todos os casos, o teste paramétrico ANOVA continua a ser robusto (Maroco, 2010), pelo que foi utilizado.

### **5.9.3. *C. maritimum* – Adição de extrato e biomassa após a coagulação (Lote 5)**

Nos casos em que se verificou (por exemplo queijos **controle**, para os tempos  $t=0$  e  $t=4$  das variáveis dependentes **L** e **a** , cujos  $p=0,001$ , queijos produzidos com adição de **biomassa** para o tempo  $t=0$  da variável dependente **L**, onde  $p=0,023$ , valores de **pH** para o tempo  $t=0$  (**controle**, **biomassa**), onde  $p=0,040$  e  $p=0,037$ , para o tempo  $t=4$  (**extrato**), onde  $p<0,001$ , valores de **extrato seco** para o tempo  $t=0$  (**extrato**), onde  $p<0,001$ , valores de **gordura** para todos os tempos (**controle** e **extrato**), onde  $p<0,001$  e valores de **proteína** para o tempo  $t=4$  (**controle**), onde  $p<0,001$ ), os desvios à normalidade são pequenos, e uma vez que a ANOVA é robusta a violações suaves deste pressuposto (Maroco, 2010), não se procedeu a qualquer transformação matemática corretiva.

Apenas nos casos dos valores das variáveis dependentes **L** e **C** para os queijos com adição de **extrato**, **pH** para os queijos **controle**, **extrato seco** para todos os queijos, **gordura** para os queijos com adição de **biomassa** e **proteína** para os queijos com adição de **biomassa** e **extrato** houve necessidade de utilizar a correção de Welch para a ANOVA como recomendado por Lix et al. (1996). Nas restantes situações, quando não se verificou homogeneidade das variâncias, a razão entre a menor e a maior variância é inferior a 1:4 e a dimensão dos grupos é superior a 5 em todos os casos, o teste paramétrico ANOVA continua a ser robusto (Maroco, 2010), pelo que foi utilizado.

### **5.9.4. *C. maritimum* - Adição de extrato e biomassa antes da coagulação – teste preliminar (lote 6)**

A variável dependente **L** não tem distribuição Normal para nenhum dos tratamentos (controle, biomassa, extrato), a variável **a** apenas se distribui de maneira Normal para a amostra com adição de biomassa. As variáveis **b** e **C** apresentam distribuição Normal para as amostras com adição de biomassa e para as amostras controle. Com relação ao **pH**, não foi verificada uma distribuição Normal para nenhum dos tratamentos. Contudo, os desvios à normalidade são pequenos, e uma vez que a ANOVA é robusta a violações suaves deste pressuposto (Maroco, 2010), não se procedeu a qualquer transformação matemática corretiva.

Nenhuma das variáveis dependentes estudadas apresentou homogeneidade de variâncias, de acordo com o teste de Levene ( $p\text{-value} < 0,05$ ), mas uma vez que a razão entre as menores e as maiores variância de cada caso é inferior a 1:4 e a dimensão dos grupos é sempre superior a 5, o teste paramétrico ANOVA continua a ser robusto, pelo que foi utilizado.

### **5.9.5. *C. maritimum* – Adição de extrato e biomassa antes da coagulação (Lote 8)**

Nos casos em que se verificou (por exemplo queijos produzidos com adição de **biomassa** para o tempo  $t=0$  das variáveis dependentes **b** e **C**, onde  $p=0,008$  e  $p=0,020$ , queijos

produzidos com **extrato** para os tempos  $t=0$  e  $t=8$  da variável dependente **L**, onde  $p=0,003$  e  $p=0,039$ , valores de **pH** para o tempo  $t=0$  (**biomassa**), onde  $p=0,008$ , valores de  $a_w$  para o tempo  $t=0$  (**controlo**), onde  $p<0,001$ , valores de **extrato seco** para o tempo  $t=8$  (**controlo**), onde  $p<0,001$  e valores de **gordura** para os tempos  $t=0$  e  $t=4$  (**controlo**) onde  $p<0,001$ , os desvios à normalidade são pequenos, e uma vez que a ANOVA é robusta a violações suaves deste pressuposto (Maroco, 2010), não se procedeu a qualquer transformação matemática corretiva.

Por outro lado, apenas nos casos dos valores da variável dependente **a** para os queijos **controlo** e com adição de **extrato**, para os valores das variáveis dependentes **a** e **b** para os queijos com adição de **biomassa**, **pH** para os queijos **controlo** e com adição de **extrato**, **extrato seco** para os queijos **controlo** e com adição de **extrato**,  $a_w$ , **gordura** e **proteína** para todos os queijos, houve necessidade de utilizar a correção de Welch para a ANOVA como recomendado por Lix et al. (1996). Nas restantes situações, quando não se verificou homogeneidade das variâncias, a razão entre a menor e a maior variância é inferior a 1:4 e a dimensão dos grupos é superior a 5 em todos os casos, o teste paramétrico ANOVA continua a ser robusto (Maroco, 2010), pelo que foi utilizado.

#### 5.9.6. Efeito dos métodos de fabrico nos parâmetros químicos (pH, $a_w$ , Extrato Seco, Gordura e Proteína)

A diferença entre a adição de biomassa antes (Grupo 1) e depois da coagulação (Grupo 2) foi avaliada com o teste T de *Student* para amostras independentes. Os pressupostos deste método estatístico, nomeadamente as normalidades das distribuições e a homogeneidade de variâncias nos dois grupos foram avaliados, respetivamente, com os testes de Kolmogorov-Simimov e de Levene. Consideraram-se como estatisticamente significativas as diferenças entre as médias cujo *p-value* do teste foi inferior ou igual a 0,05.

No teste onde se utilizou *H. picardii*, os valores de  $a_w$  nos casos da adição de **biomassa** antes e após da coagulação ( $KS(3)_{\text{Grupo1}}=0,750$ ,  $p<0,001$ ), e  $KS(3)_{\text{Grupo2}}=0,754$ ,  $p=0,009$ ) e os valores de **Extrato Seco** no caso da adição de **extrato** antes da coagulação não apresentaram distribuição Normal. No teste onde se utilizou *C. maritimum*, apenas o valor de **Extrato Seco** no caso de adição da **biomassa** após da coagulação ( $KS(3)_{\text{Grupo2}}=0,750$ ;  $p<0,001$ ) não apresenta distribuição Normal. Verificou-se, no entanto, que os desvios à normalidade são pequenos, e uma vez que a ANOVA é robusta a violações suaves deste pressuposto (Maroco, 2010), não se procedeu a qualquer transformação matemática corretiva.

Para *H. picardii*, no caso dos referidos valores de  $a_w$ , também, não se verifica homogeneidade de variâncias ( $F(4)=15,48$ ,  $p=0,017$ ), assim como para *C. maritimum*, para os valores de **proteína** ( $F(4)=0,182$ ;  $p=0,009$ ). Contudo, uma vez que a razão entre as menores e as maiores variâncias de cada caso é inferior a 1:4 e a dimensão dos grupos é sempre superior a 5, o teste paramétrico ANOVA continua a ser robusto, pelo que foi utilizado.

## 6. Resultados e discussão

### 6.1. Rendimento Queijeiro

De acordo com dados da Direção Geral de Veterinária, o rendimento queijeiro esperado para queijo de cabra fresco é de cerca de 22%, ou seja, para produzir 1 kg de queijo são utilizados, por norma, 4,5 L de leite. O queijo obtido neste projeto atingiu rendimentos entre 21-31,1% (Tabela 6.1).

Tabela 6.1 Rendimento obtido em cada uma das produções (B – biomassa adicionada antes da coagulação; C – controlo – sem adição de planta; E – extrato adicionado antes da coagulação).

Lote	Volume (L)	Rendimento
Lote 1	2	25%
Lote 2	2	25%
Lote 4	12	26%
Lote 5	12	29%
Lote 7 (B; C; E)	12	24,1%/21%/25,5%
Lote 8 (B; C; E)	12	31,1%/28,2%/29,7%

### 6.2. *Helichrysum picardii* - Teste de Concentração ótima de Biomassa

Na tabela 6.2 constam os valores das concentrações experimentais de biomassa, para perceber a quantidade máxima da mesma poderia ser adicionada sem que as características organolépticas fossem prejudicadas, conferindo características desagradáveis ao paladar. Determinou-se, assim, que a gama aceitável de concentração estaria abaixo de 0,5151 g de biomassa/100 g de queijo.

Tabela 6.2 Teste de Concentração de biomassa – *H. picardii* adicionado após a coagulação (lote 2).

Concentração (g biomassa/100g queijo)	Observações
0,3876	Textura normal, sabor característico com ligeiríssimo amargor no final de prova
0,5151	Textura normal, sabor característico com ligeiro amargor no final de prova
0,7741	Textura “arenosa”, sabor adstringente

### 6.3. *Helichrysum picardii* – Adição de extrato e biomassa após a coagulação (lote 4)

#### 6.3.1. Cor

No caso dos queijos **controlo** (tabela 6.3), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre **L**, **b** e **C**, (ANOVA,  $F(2,42)=1255,003$ ;  $p<0,001$ ) (Anexo A, Tabela A5.);  $F(2, 45)=25,974$ ;  $p<0,001$ ) e  $F(2,45)=30,088$ ;  $p<0,001$ ), respectivamente.

A luminosidade (**L**) diminuiu ligeiramente ao longo do tempo, com especial relevância para a primeira semana (Tukey HSD,  $p < 0,001$ ; Anexo A, Tabela A6). As variáveis **b** e **C** aumentaram ao longo do tempo, apresentando diferenças significativas (Tukey HSD,  $p < 0,001$ ) em todos os tempos, o que indica um ligeiro aumento do tom amarelo ao longo do período em estudo, confirmado pelo aumento da intensidade da cor (Cromaticidade) com a mesma tendência.

Caleja *et al.* (2016), em seu trabalho com produtos lácteos, também obtiveram resultados semelhantes para **L**, onde os valores do mesmo foram diminuindo ao longo do tempo de armazenamento.

No que respeita a variável **a**, é possível afirmar que o tempo não teve um efeito estatisticamente significativo (ANOVA,  $F(2,45)=2,910$ ;  $p=0,065$ ).

Nos queijos produzidos com adição de **biomassa** (tabela 6.3), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre **L** e **a** (ANOVA,  $F(2,57)=48,219$ ;  $p < 0,001$ ) e (ANOVA,  $F(2,57)=27,095$ ;  $p < 0,001$ ), respetivamente.

A luminosidade (**L**) diminuiu ao longo do tempo. Existem diferenças estatisticamente significativas (Tukey HSD,  $p < 0,001$ ) para este fator na primeira semana. Relativamente à variável **a**, verificou-se um aumento do seu valor na amostra enriquecida com biomassa, indicando que com o tempo o queijo foi atingindo tons menos esverdeados. As diferenças estatisticamente significativas (Tukey HSD,  $p < 0,001$ ) para este fator foram verificadas entre o  $t=0$  e os restantes dois tempos, o que indicou que a variação deste parâmetro ocorreu essencialmente durante a primeira semana, muito provavelmente devido à oxidação da biomassa.

Nos queijos preparados com o pó de camomila, no trabalho de Caleja *et al.* (2016), também foi possível observar uma diminuição dos valores de **L**, enquanto que apresentaram valores de **a** ligeiramente mais elevados.

Relativamente à variável **b**, o tempo pareceu ter sobre ela um efeito estatisticamente significativo (ANOVA,  $F(2,54)=3,350$ ;  $p=0,043$ ), mas que não foi confirmado pelo teste Tukey HSD que apresentou todos os  $p > 0,071$  entre os diferentes tempos.

No que respeita à variável **C**, verificou-se que o tempo não teve um efeito estatisticamente significativo (ANOVA,  $F(2,60)=2,811$ ;  $p=0,068$ ) sobre ela, o que pode confirmar que a intensidade do tom não variou ao longo do tempo.

No caso dos queijos produzidos com adição de **extrato** (tabela 6.3), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre **L**, **b** e **C**, (ANOVA,  $F(2,60)=156,209$ ;  $p < 0,001$ );  $F(2, 60)=70,172$ ;  $p < 0,001$ ) e  $F(2,60)=70,545$ ;  $p < 0,001$ ), respectivamente.

Tabela 6.3 Avaliação de Cor. Teste com *H. picardii* adicionado após a coagulação (Lote 4) (Tempo de duração: 14 dias)

Tratamento <sup>1</sup>	Biomassa			Extrato			Controlo		
	t=0	t=7	t=14	t=0	t=7	t=14	t=0	t=7	t=14
<b>L</b>	78,03±1,57 <sup>a</sup>	74,22±1,28 <sup>c</sup>	75,21±0,86 <sup>b</sup>	77,91±0,71 <sup>a</sup>	75,47±0,77 <sup>b</sup>	73,43±0,96 <sup>c</sup>	80,19±0,35 <sup>a</sup>	76,46±0,11 <sup>b</sup>	76,41±0,19 <sup>b</sup>
<b>a</b>	-0,41±0,09 <sup>b</sup>	-0,19±0,10 <sup>a</sup>	-0,21±0,13 <sup>a</sup>	-0,12±0,15 <sup>a</sup>	-0,22±0,09 <sup>a</sup>	-0,20±0,23 <sup>a</sup>	-0,34±0,02 <sup>a</sup>	-0,34±0,03 <sup>a</sup>	-0,37±0,07 <sup>a</sup>
<b>b</b>	4,68±0,27 <sup>a</sup>	5,05±0,46 <sup>a</sup>	5,05±0,69 <sup>a</sup>	7,20±0,61 <sup>b</sup>	5,24±0,76 <sup>c</sup>	9,03±1,51 <sup>a</sup>	3,93±0,13 <sup>c</sup>	4,25±0,04 <sup>b</sup>	4,50±0,36 <sup>a</sup>
<b>C</b>	4,79±0,38 <sup>a</sup>	5,05±0,52 <sup>a</sup>	5,25±0,90 <sup>a</sup>	7,20±0,61 <sup>b</sup>	5,24±0,76 <sup>c</sup>	9,03±1,50 <sup>a</sup>	3,94±0,13 <sup>c</sup>	4,27±0,04 <sup>b</sup>	4,50±0,33 <sup>a</sup>

Valores com índices (a—c) diferentes na mesma linha, dentro do conjunto “Biomassa”, “Extrato”, ou “Controlo”, apresentam diferenças estatisticamente significativas (Teste HSD de Tukey,  $p < 0,05$ ).

L: luminosidade; a: componente verde-vermelho; b: componente azul-amarelo; C: cromaticidade.

<sup>1</sup>Tratamento: Biomassa – adição de planta sob a forma de biomassa; extrato – adição de planta sob a forma de extrato; controlo – sem adição de planta

A luminosidade (**L**) diminuiu ligeiramente ao longo do tempo, apresentando diferenças significativas (Tukey HSD,  $p < 0,001$ ) entre todos os tempos. As variáveis **b** e **C** apresentaram uma tendência de aumento ao longo do tempo, tendo registado uma ligeira diminuição na primeira semana, mas apresentando diferenças significativas (Tukey HSD,  $p < 0,001$ ) em todos os tempos, o que indica um ligeiro aumento do tom amarelo ao longo do período em estudo, confirmado pelo aumento da intensidade da cor (Cromaticidade).

Buffa *et al.* (2001) em seu trabalho com queijos produzidos a partir de leite de cabra cru, pasteurizado e ultrapasteurizado também verificou que o valor **L** diminuiu e o valor de **b** aumentou ao longo do tempo.

No que respeita à variável **a**, é possível afirmar que o tempo não teve um efeito estatisticamente significativo (ANOVA,  $F(2,60)=2,144$ ;  $p=0,126$ ).

Na figura 6.1, é possível observar a evolução do aspeto das amostras ao longo do estudo (14 dias).

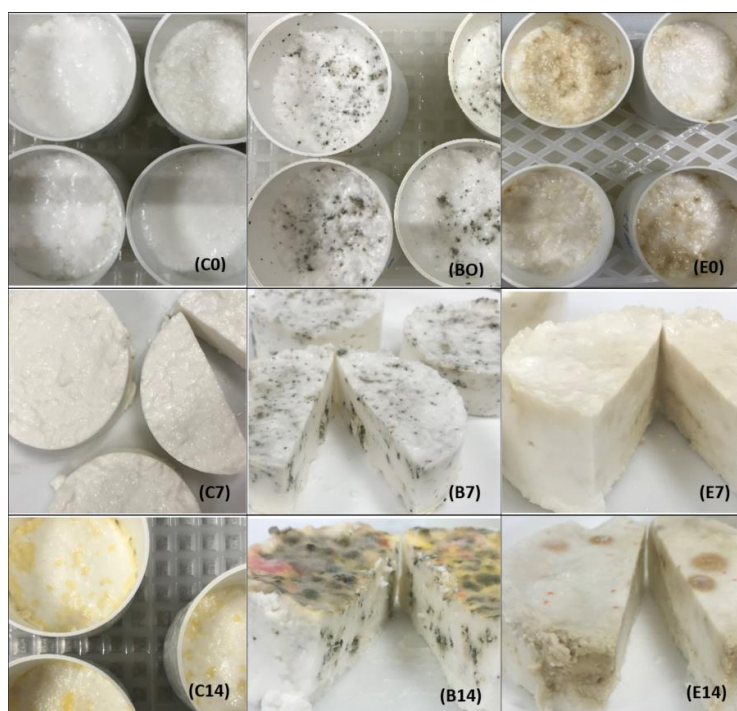


Figura 6.1 *H. picardii* – adição de extrato e biomassa após a coagulação (lote 4). (C0) Controlo,  $t=0$ ; (C7) Controlo,  $t=7$  dias; (C14) Controlo,  $t=14$  dias; (B0) Biomassa,  $t=0$ ; (B7) Biomassa,  $t=7$  dias; (B14) Biomassa,  $t=14$  dias; (E0) Extrato,  $t=0$ ; (E7) Extrato,  $t=7$  dias; (E14) Extrato,  $t=14$  dias. © ANA CARVALHO

### 6.3.2. pH, aw, extrato seco, gordura

No caso dos queijos **controlo** e com adição de **biomassa**, verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre o **pH** (ANOVA Welch,  $F(2,24)=11,605$ ;  $p < 0,001$  (Anexo B, Tabela B5) e ANOVA;  $F(2, 18)=25,823$ ;  $p < 0,001$ , respetivamente), enquanto que com adição de **extrato** (ANOVA Welch;  $F(2, 24)=4,244$ ;  $p=0,072$ ) não se verificou qualquer efeito (tabela 6.4).

Dias (2020) relatou valores iniciais de **pH** (t=0) semelhante ao deste trabalho, obtendo valores na ordem de  $6,61 \pm 0,02$ . Presente *et al.* (2016) relata em seu trabalho, tanto para os queijos com óleo essencial como para o controlo um valor médio de  $6,9 \pm 0,1$ .

Relativamente ao **a<sub>w</sub>** (tabela 6.4), o tempo teve um efeito estatisticamente significativo para os queijos **controlo** (ANOVA, F(2,6)=72,333; p<0,001), e com adição de **biomassa** (ANOVA, F(2,6)=36,571; p<0,001), e para os queijos com adição de **extrato** (ANOVA, F(2,6)=12,216; p=0,008). Dias (2020) obteve valores iniciais semelhantes, na ordem de 0,988.

O **extrato seco** (tabela 6.4) variou de forma estatisticamente significativa para os queijos **controlo** (ANOVA, F(2,6)=188,351; p<0,001) e com adição de **extrato** (ANOVA, F(2,6)=58,980; p<0,001), apresentando um menor efeito para os queijos com adição de **biomassa** (ANOVA Welch, F(2,6)=12,653; p=0,056, corroborado por Tukey HSD; p=0,076 e p=0,804 para as primeira e segunda semana, respetivamente).

O tempo apresentou um efeito estatisticamente significativo sobre a **gordura** (tabela 6.4) para os queijos **controlo** (ANOVA, F(2,6)=46,647; p<0,001) e com adição de **biomassa** (ANOVA, F(2,6)=25,083; p=0,001), aumentando ao longo do tempo. No caso da adição de **extrato** (ANOVA, F(2,6)=0,813; p=0,487) não se verificou qualquer efeito, apresentando valores de gordura próximos dos 18% ao longo de todo o período em análise.

Tabela 6.4 Resultados das análises químicas (pH, a<sub>w</sub>, extrato seco e gordura) – Teste com *H. picardii* adicionado após a coagulação (Lote 4) (Tempo de duração: 14 dias).

Parâmetro	Tratamento	t=0	t=7	t=14
<b>pH</b>	<b>Biomassa</b>	6,53±0,02 <sup>a</sup>	6,43±0,03 <sup>b</sup>	6,50±0,03 <sup>a</sup>
	<b>Extrato</b>	6,57±0,01 <sup>a</sup>	6,57±0,01 <sup>a</sup>	6,55±0,02 <sup>a</sup>
	<b>Controlo</b>	6,49±0,01 <sup>b</sup>	6,57±0,02 <sup>a</sup>	6,48±0,07 <sup>b</sup>
<b>a<sub>w</sub></b>	<b>Biomassa</b>	0,981±0,00 <sup>a</sup>	0,965±0,00 <sup>b</sup>	0,965±0,00 <sup>b</sup>
	<b>Extrato</b>	0,962±0,01 <sup>b</sup>	0,976±0,00 <sup>a</sup>	0,954±0,00 <sup>b</sup>
	<b>Controlo</b>	0,984±0,00 <sup>a</sup>	0,973±0,00 <sup>b</sup>	0,969±0,00 <sup>b</sup>
<b>Extrato seco (%)</b>	<b>Biomassa</b>	35,0±0,21 <sup>b</sup>	38,2±1,69 <sup>a,b</sup>	38,9±1,73 <sup>a</sup>
	<b>Extrato</b>	34,6±0,64 <sup>c</sup>	40,0±1,70 <sup>b</sup>	45,8±1,19 <sup>c</sup>
	<b>Controlo</b>	31,7±0,75 <sup>c</sup>	37,2±0,15 <sup>b</sup>	39,3±0,40 <sup>a</sup>
<b>Gordura (%)</b>	<b>Biomassa</b>	15,3±0,58 <sup>c</sup>	17,2±0,00 <sup>b</sup>	18,7±0,29 <sup>a</sup>
	<b>Extrato</b>	17,5±0,50 <sup>a</sup>	18,0±1,00 <sup>a</sup>	18,2±0,29 <sup>a</sup>
	<b>Controlo</b>	14,7±0,58 <sup>c</sup>	18,2±0,29 <sup>b</sup>	20,0±1,00 <sup>a</sup>

Valores com índices (a–c) diferentes na mesma linha, dentro do conjunto “Biomassa”, “Extrato”, ou “Controlo”, apresentam diferenças estatisticamente significativas (Teste HSD de Tukey, p<0,05).

### 6.3.3. *E. coli*

Relativamente a enumeração para *E. coli*, todas as amostras apresentaram contagens inferiores a 10 ufc/g, o que indica que, relativamente a este parâmetro, o queijo estava próprio para o consumo em todos os tempos analisados. O máximo admissível seria 100 ufc/g (Regulamento 1441/2007). Resultados diferentes destes foram encontrados por



Santos (2015), onde cerca de 53 % das amostras dos queijos frescos de leite cabra analisados apresentaram valores superiores aos permitidos pela legislação.

#### 6.3.4. *Staphylococcus coagulase positiva*

Relativamente à pesquisa para *Staphylococcus coagulase positiva*, todas as amostras apresentaram contagens inferiores a 10 ufc/g, o que significa que estão conformes com a legislação em vigor, que indica valores <10 ufc/g (Regulamento 1441/2007). Os resultados obtidos diferem dos encontrados por Garcia *et al.* (2016), onde todas as amostras de queijo fresco artesanal analisadas apresentaram valores acima do padrão estabelecido pela legislação para *Staphylococcus spp.*

#### 6.3.5. *Listeria monocytogenes*

Apesar dos resultados de *E. coli* e *Staphylococcus coagulase positiva* se apresentarem inferiores aos limites legais, o queijo já apresentava algumas colónias de microrganismos visíveis após 14 dias de armazenamento, pelo que não se fez a análise de *L. monocytogenes*.

#### 6.3.6. Microrganismos a 30 °C

Os resultados apresentados na tabela 6.5 parecem indicar que a adição de plantas não teve efeito no prolongamento do tempo de conservação útil dos queijos em estudo, uma vez que os 3 tipos de queijo apresentam valores semelhantes. No caso da adição do extrato, aos 7 dias o queijo apresenta menos um valor logarítmico que o controlo e o que teve adição da biomassa, mas esse efeito esvaiu-se no tempo até atingir os 14 dias. No que diz respeito aos microrganismos a 30 °C, os resultados obtidos nas análises microbiológicas dos queijos frescos de leite de cabra em estudo feito por Santos (2015), alcançaram valores também significativos.

No final do ensaio, todos os queijos apresentaram colónias visíveis na sua superfície (Figura 6.1 (C14; B14; E14)), pelo que se decidiu reduzir o período de armazenamento dos queijos nos restantes ensaios para uma semana.

Tabela 6.5 Pesquisa para microrganismos a 30 °C. Teste com *H. picardii* adicionado após a coagulação (Lote 4) (Tempo de duração: 14 dias)

Tempo	Biomassa (log ufc/g)	Extrato (log ufc/g)	Controlo (log ufc/g)
t=0	(1)	4,00±0,00	(1)
t=7	7,55±0,03	6,18±0,11	7,35±0,01
t=14	8,85±0,16	8,45±0,16	8,75±0,23

(1) Não determinado.

### 6.3.7. Bolores e Leveduras

A adição de *H. picardii* sob a forma de biomassa (Tabela 6.6) parece ter tido efeito negativo, influenciando o desenvolvimento de bolores. Talvez a biomassa estivesse contaminada com alguns bolores que se desenvolvem no ambiente muito propício que é o queijo.

Relativamente às leveduras, não parece existir grande alteração pela adição da planta, quer sob a forma de biomassa, quer sob a forma de extrato.

Cardinali (2016) observou que nos queijos de ovelha produzidos com adição do extrato das folhas de *Carlina acanthifolia* All. Subsp. *Acanthifolia*, a incidência dos fungos foi superior em comparação aos queijos controlo, o que pode indicar que as próprias folhas poderiam previamente ter alguma presença de fungos.

Tabela 6.6 Pesquisa para Fungos. Teste com *H. picardii* adicionado após a coagulação (Lote 4) (Tempo de duração: 14 dias)

	Tempo	Biomassa (log ufc/g)	Extrato (log ufc/g)	Controlo (log ufc/g)
Leveduras	t=0	2,54±0,32	<1	<1
	t=7	5,60±0,07	4,17±0,23	4,53±0,35
	t=14	6,96±0,30	(1)	5,39±0,35
Bolores	t=0	2,31±0,24	<1	<1
	t=7	3,12±0,16	<1	<1
	t=14	5,00±0,00	(1)	<1

(1) Não determinado.

## 6.4. *Helichrysum picardii* – Adição de extrato e biomassa antes da coagulação (Lote 7)

### 6.4.1. Cor

No caso dos queijos **controlo** (tabela 6.7), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre **L**, **a**, **b** e **C**, (ANOVA, F(2,60)=63,634; p<0,001); (ANOVA, F(2,60)=43,916; p<0,001); (ANOVA, F(2,57)=13,908; p<0,001) e (ANOVA, F(2,60)=13,359; p<0,001), respectivamente.

Nos queijos produzidos com adição de **biomassa** (tabela 6.7), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre as variáveis **L** e **a** (ANOVA, F(2,60)=6,685; p=0,002) e (ANOVA, F(2,60)=8,779; p<0,001), respectivamente.

Como no estudo feito por Caleja *et al.* (2016), onde a luminosidade (**L**) diminuiu ao longo do tempo, mesmo nas amostras preparadas com pó de camomila, no presente trabalho a mesma também diminuiu ligeiramente ao longo do tempo. Relativamente à variável **a**, verificou-se um aumento do seu valor na amostra enriquecida com **biomassa**, indicando que com o tempo o queijo foi atingindo tons menos esverdeados.

Tabela 6.7 Avaliação de Cor. Teste com *H. picardii* adicionado antes da coagulação (Lote 7) (Tempo de duração: 8 dias).

Tratamento <sup>1</sup>	Biomassa			Extrato			Controlo		
	t=0	t=4	t=8	t=0	t=4	t=8	t=0	t=4	t=8
<b>L</b>	73,91±2,74 <sup>a</sup>	72,83±1,71 <sup>a,b</sup>	71,68±1,15 <sup>b</sup>	79,11±1,27 <sup>a</sup>	76,15±0,32 <sup>b</sup>	73,6±0,79 <sup>c</sup>	80,96±0,99 <sup>a</sup>	79,10±0,62 <sup>b</sup>	77,97±0,95 <sup>c</sup>
<b>a</b>	-0,73±0,17 <sup>b</sup>	-0,56±0,14 <sup>a</sup>	-0,56±0,14 <sup>a</sup>	-0,49±0,17 <sup>a</sup>	-0,59±0,06 <sup>a</sup>	-0,97±0,23 <sup>b</sup>	-0,31±0,08 <sup>a</sup>	-0,66±0,06 <sup>b</sup>	-0,38±0,2 <sup>a</sup>
<b>b</b>	7,62±0,60 <sup>a</sup>	7,35±0,85 <sup>a</sup>	7,16±0,24 <sup>a</sup>	8,08±0,31 <sup>c</sup>	8,53±0,16 <sup>b</sup>	9,84±0,045 <sup>a</sup>	3,88±0,09 <sup>a</sup>	3,73±0,13 <sup>b</sup>	3,98±0,19 <sup>a</sup>
<b>C</b>	7,50±0,71 <sup>a</sup>	7,30±0,86 <sup>a</sup>	7,13±0,28 <sup>a</sup>	8,14±0,29 <sup>c</sup>	8,52±0,14 <sup>b</sup>	9,78±0,26 <sup>a</sup>	3,89±0,09 <sup>b</sup>	3,79±0,13 <sup>b</sup>	4,01±0,17 <sup>a</sup>

Valores com índices (a—c) diferentes na mesma linha, dentro do conjunto “Biomassa”, “Extrato”, ou “Controlo”, apresentam diferenças estatisticamente significativas (Teste HSD de Tukey,  $p < 0,05$ ).

L: luminosidade; a: componente verde-vermelho; b: componente azul-amarelo; C: cromaticidade.

<sup>1</sup>Tratamento: Biomassa – adição de planta sob a forma de biomassa; extrato – adição de planta sob a forma de extrato; controlo – sem adição de planta

Relativamente à variável **b**, é possível afirmar que o tempo não teve sobre ela um efeito estatisticamente significativo (ANOVA,  $F(2,51)=2,528$ ;  $p=0,090$ ), embora a cor amarela pareça ter-se intensificado um pouco ao longo do tempo.

No que respeita à variável **C**, verificou-se que o tempo não teve um efeito estatisticamente significativo (ANOVA Welch,  $F(2,57)=1,654$ ;  $p=0,087$ ) sobre ela.

No caso dos queijos produzidos com adição de **extrato** (tabela 6.7), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre **L**, **a**, **b** e **C**, (ANOVA,  $F(2,51)=393,887$ ;  $p<0,001$ ); (ANOVA,  $F(2,60)=49,663$ ;  $p<0,001$ ); (ANOVA,  $F(2,60)=159,748$ ;  $p<0,001$ ) e (ANOVA,  $F(2,54)=244,868$ ;  $p<0,001$ ), respectivamente.

A variável **L** diminuiu ligeiramente ao longo do tempo, enquanto que as variáveis **b** e **C** apresentaram uma tendência de aumento ao longo do tempo, o que indica um ligeiro aumento do tom amarelo ao longo do período em estudo, confirmado pelo aumento da intensidade da cor (Cromaticidade). Ginzinger *et al.* (1999) relataram que o índice de amarelamento em queijos Bergkase, uma medida da cor do queijo altamente correlacionada a variável **b**, aumentou à medida que o queijo envelhecia.

Ao longo de 8 dias de estudo, as amostras sofreram algumas alterações no que diz respeito o seu aspeto, alterações estas que podem ser observadas na Figura 6.2.

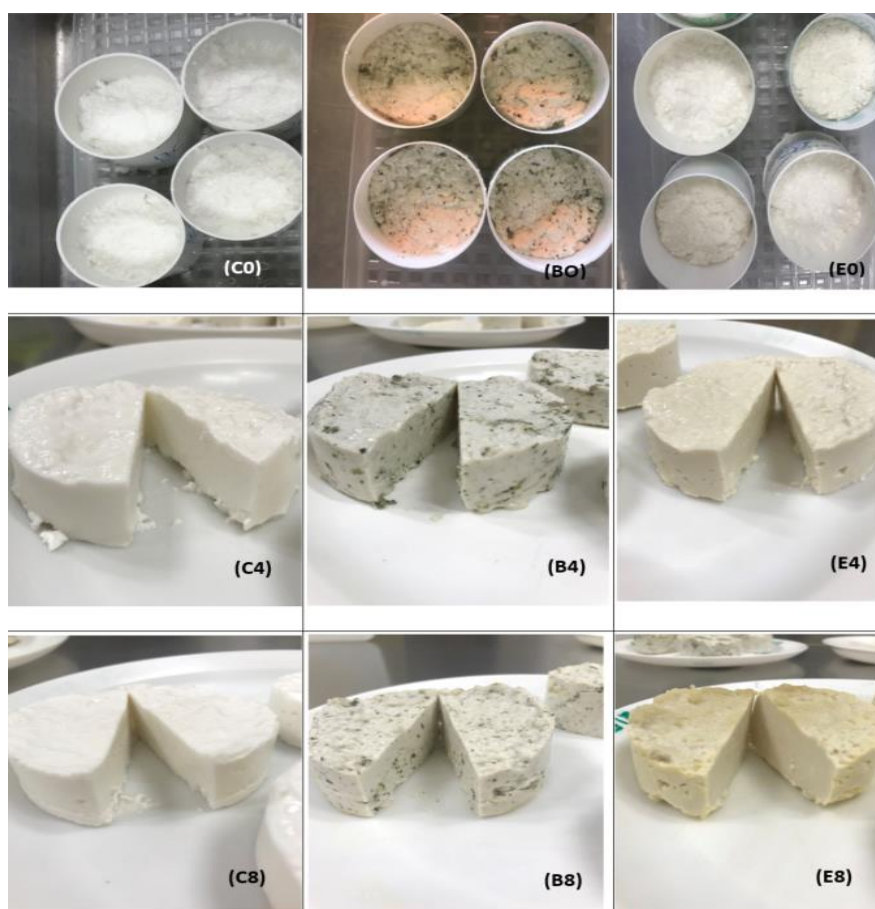


Figura 6.2 *H. picardii* – adição de extrato e biomassa antes coagulação (lote 7). (C0) Controlo, t=0; (C4) Controlo, t=4 dias; (C8) Controlo, t=8 dias; (B0) Biomassa, t=0; (B4) Biomassa, t=4 dias; (B8) Biomassa, t=8 dias; (E0) Extrato, t=0; (E4) Extrato, t=4 dias; (E8) Extrato, t=8 dias. © ANA CARVALHO

#### 6.4.2. pH, a<sub>w</sub>, extrato seco e gordura

Em todos os queijos, verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre o pH de todos os queijos (ANOVA Welch; F(2,24)=6349,077; p<0,001(**controle**), ANOVA Welch; F(2,24)=3720,762; p<0,001 (**extrato**) e ANOVA Welch F(2,24)=2942,207; p<0,001 (**biomassa**)) (tabela 6.8). Os valores encontrados foram similares ao valor médio para pH (6,55±0,02), no trabalho de Potes *et al.* (2005).

Relativamente ao a<sub>w</sub> (tabela 6.8), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo para os queijos **controle** e **biomassa** (ANOVA Welch, F(2,6)=10,957; p=0,006 e ANOVA, F(2,6)=126,437; p<0,001, respetivamente). Nos queijos com adição de **extrato**, não se verificou qualquer efeito (ANOVA; F(2,6)=1,827; p=0,240).

Os queijos frescos de leite de cabra avaliados por Santos (2015) obtiveram um valor médio para a<sub>w</sub> de 0,847, valor esse inferior aos resultados obtidos neste trabalho para todos os tempos e todas as amostras.

Em todos os queijos para **extrato seco** (tabela 6.8), foram verificadas diferenças significativas (ANOVA Welch F(2,6)=174,788; p<0,001 (**controle**); ANOVA F(2,6)=125,869; p<0,001 (**biomassa**) e ANOVA Welch F(2,6)=204,989; p<0,001 (**extrato**)) ao longo do tempo. Este era um resultado esperado, uma vez que, ao decorrer do tempo, a humidade diminui aumentando o teor dos sólidos totais.

A **gordura** (tabela 6.8) também apresentou um efeito estatisticamente significativo para os queijos **controle** (ANOVA, F(2,6)=135,250; p<0,001), com adição de **biomassa** (ANOVA, F(2,6)=69,020; p=0,001), e **extrato** (ANOVA, F(2,6)=28,583; p=0,001).

Tabela 6.8 Resultados das análises químicas (pH, a<sub>w</sub>, extrato seco e gordura). Teste com H. picardii adicionado antes da coagulação (Lote 7) (Tempo de duração: 8 dias).

Parâmetros	Tratamento	t=0	t=4	t=8
pH	<b>Biomassa</b>	6,93±0,01 <sup>a</sup>	6,22±0,01 <sup>c</sup>	6,36±0,03 <sup>b</sup>
	<b>Extrato</b>	6,97±0,01 <sup>a</sup>	6,23±0,02 <sup>c</sup>	6,44±0,02 <sup>b</sup>
	<b>Controlo</b>	6,92±0,00 <sup>a</sup>	6,25±0,01 <sup>c</sup>	6,46±0,02 <sup>b</sup>
a <sub>w</sub>	<b>Biomassa</b>	0,979±0,00 <sup>a</sup>	0,973±0,00 <sup>b</sup>	0,962±0,01 <sup>c</sup>
	<b>Extrato</b>	0,972±0,00 <sup>a</sup>	0,973±0,03 <sup>a</sup>	0,966±0,00 <sup>a</sup>
	<b>Controlo</b>	0,981±0,00 <sup>a</sup>	0,961±0,01 <sup>b</sup>	0,957±0,00 <sup>b</sup>
Extrato Seco (%)	<b>Biomassa</b>	29,9±1,59 <sup>c</sup>	40,4±0,95 <sup>b</sup>	47,2±1,40 <sup>a</sup>
	<b>Extrato</b>	34,3±1,73 <sup>c</sup>	39,5±0,40 <sup>b</sup>	51,2±0,38 <sup>a</sup>
	<b>Controlo</b>	31,0±0,12 <sup>c</sup>	36,1±0,40 <sup>b</sup>	40,1±0,95 <sup>a</sup>
Gordura (%)	<b>Biomassa</b>	15,3±0,60 <sup>b</sup>	16,5±0,70 <sup>b</sup>	21,0±0,00 <sup>a</sup>
	<b>Extrato</b>	17,3±0,80 <sup>b</sup>	17,1±0,40 <sup>b</sup>	20,3±0,60 <sup>a</sup>
	<b>Controlo</b>	15,5±0,50 <sup>b</sup>	14,8±0,30 <sup>b</sup>	19,0±0,00 <sup>a</sup>

Valores com índices (a—c) diferentes na mesma linha, dentro do conjunto “Biomassa”, “Extrato”, ou “Controlo”, apresentam diferenças estatisticamente significativas (Teste HSD de Tukey, p<0,05).

### 6.4.3. *E. coli*

Relativamente a enumeração para *E. coli*, todas as amostras apresentaram contagens inferiores a 10 ufc/g, o que indica que, relativamente a este parâmetro, o queijo estava próprio para o consumo em todos os tempos analisados. O máximo admissível seriam 100 ufc/g (Regulamento 1441/2007). Guterres (2013) também obteve resultados considerados satisfatórios para a sua pesquisa, em amostras de queijo com adição de orégãos.

### 6.4.4. *Staphylococcus coagulase positiva*

Relativamente à pesquisa para *Staphylococcus coagulase positiva*, todas as amostras apresentaram contagens inferiores a 10 ufc/g, o que significa que estão conformes com a legislação em vigor, que indica valores <10 ufc/g (Regulamento 1441/2007). Em seu trabalho, Presente (2016) verificou que nenhum dos queijos produzidos apresentaram crescimento de *Staphylococcus*.

### 6.4.5. *Listeria monocytogenes*

Nenhuma das amostras testou positivo para *L. monocytogenes* ou qualquer outro microrganismo do género *Listeria*, tal como Dias (2020), que em seu trabalho também não encontrou qualquer evidência de *L. monocytogenes* nas amostras de queijo fresco de cabra.

### 6.4.6. Microrganismos a 30 °C

Os resultados apresentados na tabela 6.9 parecem indicar que a adição de plantas teve efeito negativo no prolongamento do tempo de conservação útil dos queijos em estudo, uma vez que os dois tipos de queijo com adição de plantas tiveram resultados superiores (cerca de 2 valores logarítmicos) em relação ao controlo. No caso da adição do extrato, aos 4 e 8 dias o queijo apresenta mais um valor logarítmico que o que teve adição da biomassa e mais dois valores logarítmicos que o controlo.

Sangatelli (2007), em um estudo o tempo de conservação útil de queijo Minas, verificaram que a contagem de mesófilos totais teve um aumento constante a cada período de amostragem. O mesmo padrão pode ser verificado neste trabalho.

Tabela 6.9 Pesquisa para Microrganismos a 30 °C. Teste com *H. picardii* adicionado antes da coagulação (Lote 7) (Tempo de duração: 8 dias).

Tempo	Biomassa (log ufc/g)	Extrato (log ufc/g)	Controlo (log ufc/g)
t=0	3,70±0,00	3,43±0,31	3,30±0,39
t=4	6,91±0,13	7,41±0,03	5,11±0,09
t=8	8,53±0,13	9,10±0,05	6,48±0,10

### 6.4.7. Bolores e Leveduras

A adição de *H. picardii* parece ter tido efeito sobre o desenvolvimento de bolores quando adicionado sob a forma de biomassa para o tempo 8 (tabela 6.10). Relativamente às leveduras, não parece existir grande alteração pela adição da planta, quer sob a forma de biomassa, quer sob a forma de extrato. Buriti (2005) também não encontrou resultados significativos em seu trabalho sobre o desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico, apenas verificando alguma presença a partir do 14º dia de estudo.

Relativamente à incidência de mais bolores do que leveduras, em seu trabalho com queijos produzidos a partir do cardo, Penas (2018) observou um efeito similar onde verifica-se que foram os bolores que contribuíram mais para os níveis de fungos registados.

Tabela 6.10 Pesquisa para Fungos. Teste com *H. picardii* adicionado antes da coagulação (Lote 7) (Tempo de duração: 8 dias).

	Tempo	Biomassa (log ufc/g)	Extrato (log ufc/g)	Controlo (log ufc/g)
Leveduras	t=0	<1	<1	<1
	t=4	<1	<1	<1
	t=8	4,15±0,00	4,51±0,25	2,89±0,17
Bolores	t=0	<1	<1	<1
	t=4	<1	<1	<1
	t=8	3,06±0,10	<1	<1

## 6.5. *Crithmum maritimum* - Adição de extrato e biomassa após a coagulação (lote 5)

### 6.5.1. Cor

No caso dos queijos **controlo** (tabela 6.11), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre **L**, **a**, **b** e **C**, (ANOVA, F(2,57)=261,606; p<0,001); (ANOVA, F(2,60)=46,715; p<0,001), (ANOVA, F(2,54)=120,051; p<0,001) e (ANOVA, F(2,54)=123,072; p<0,002), respectivamente.

Assim como no trabalho de Carochio *et al.* (2015), o valor mais alto para **L** está atribuído ao queijo controlo no primeiro dia. Depois disso, os mesmos diminuíram ao longo do tempo. No caso deste trabalho verifica-se um ligeiro aumento do tom amarelo ao longo do período em estudo, confirmado pelo aumento da intensidade da cor (Cromaticidade) com a mesma tendência.

No trabalho de Queiroga *et al.* (2013), valores mais altos para a variável **a** (p<0,05) foram encontrados nos queijos produzidos com leite de cabra, os quais são atribuídos principalmente aos seus perfis de ácidos graxos.

Tabela 6.11 Avaliação de Cor. Teste com *C. maritimum* adicionado após a coagulação (Lote 5) (Tempo de duração: 8 dias).

Tratamento <sup>1</sup>	Biomassa			Extrato			Controlo		
	t=0	t=4	t=8	t=0	t=4	t=8	t=0	t=4	t=8
<b>L</b>	72,76 ±2,80 <sup>a</sup>	74,87 ±1,09 <sup>a</sup>	70,37 ±3,42 <sup>b</sup>	80,08 ±0,82 <sup>a</sup>	77,31 ±0,47 <sup>b</sup>	76,50 ±0,55 <sup>c</sup>	81,33±0,93 <sup>a</sup>	77,69±0,33 <sup>b</sup>	77,22 ±0,44 <sup>b</sup>
<b>a</b>	-1,80 ±0,51 <sup>b</sup>	-0,52 ±0,19 <sup>a</sup>	-0,37 ±0,46 <sup>a</sup>	-0,51 ±0,24 <sup>c</sup>	-0,26 ±0,06 <sup>b</sup>	-0,11 ±0,12 <sup>a</sup>	-0,45 ±0,18 <sup>c</sup>	-0,23 ±0,04 <sup>b</sup>	-0,12 ±0,07 <sup>a</sup>
<b>b</b>	10,41 ±1,11 <sup>a</sup>	6,03 ±1,04 <sup>c</sup>	8,33 ±2,52 <sup>b</sup>	4,41 ±0,16 <sup>c</sup>	4,69 ±0,81 <sup>b</sup>	4,96 ±0,41 <sup>a</sup>	3,82 ±0,14 <sup>c</sup>	4,01 ±0,06 <sup>b</sup>	4,38 ±0,12 <sup>a</sup>
<b>C</b>	12,05±2,67 <sup>a</sup>	6,79±1,51 <sup>c</sup>	9,94±3,40 <sup>b</sup>	4,45±0,17 <sup>b</sup>	4,69±0,24 <sup>a</sup>	4,85±0,30 <sup>a</sup>	3,85±0,13 <sup>c</sup>	4,02±0,05 <sup>b</sup>	4,38±0,12 <sup>a</sup>

Valores com índices (a—c) diferentes na mesma linha, dentro do conjunto “Biomassa”, “Extrato”, ou “Controlo”, apresentam diferenças estatisticamente significativas (Teste HSD de Tukey,  $p < 0,05$ ).

L: luminosidade; a: componente verde-vermelho; b: componente azul-amarelo; C: cromaticidade.

<sup>1</sup>Tratamento: Biomassa – adição de planta sob a forma de biomassa; extrato – adição de planta sob a forma de extrato; controlo – sem adição de planta



Nos queijos produzidos com adição de **biomassa** (tabela 6.11), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre as variáveis **L**, **a**, **b** e **C**, (ANOVA,  $F(2,51)=12,953$ ;  $p<0,001$ ), (ANOVA,  $F(2,51)=66,688$ ;  $p<0,001$ ), (ANOVA,  $F(2,42)=24,950$ ;  $p<0,001$ ) e (ANOVA,  $F(2,60)=21,059$ ;  $p<0,001$ ), respectivamente.

Relativamente à variável **a**, verificou-se um aumento do seu valor na amostra enriquecida com **biomassa** entre os tempos  $t=0$  e  $t=4$ , esta variação foi confirmada com o teste *post-hoc* HSD de Tukey ( $p=0,001$ ). A variação deste parâmetro ocorreu, muito provavelmente, devido à oxidação da biomassa. A cor amarela (**b**) diminuiu essencialmente nos primeiros 4 dias, voltando a intensificar no período seguinte.

No caso dos queijos produzidos com adição de **extrato** (tabela 6.11), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre **L**, **a**, **b** e **C**, (ANOVA Welch,  $F(2,57)=192,237$ ;  $p<0,001$ ); (ANOVA,  $F(2,54)=31,190$ ;  $p<0,001$ ), (ANOVA,  $F(2,48)=12,953$ ;  $p<0,001$ ) e (ANOVA Welch,  $F(2,42)=10,384$ ;  $p<0,001$ ).

As variáveis **b** e **C** apresentaram uma tendência de aumento quando se comparou o queijo do primeiro dia e do último dia, o que indica um ligeiro aumento do tom amarelo ao longo do período em estudo, confirmado pelo aumento da intensidade da cor (Cromaticidade).

O lote 5, ao longo dos 8 dias em que foi realizado o ensaio, apresentou alterações físicas pouco visíveis (Figura 6.3).



Figura 6.3 *C. maritimum* – adição de extrato e biomassa após a coagulação (lote 5). (C0) Controle,  $t=0$ ; (C4) Controle,  $t=4$  dias; (C8) Controle,  $t=8$  dias; (B0) Biomassa,  $t=0$ ; (B4) Biomassa,  $t=4$  dias; (B8) Biomassa,  $t=8$  dias; (E0) Extrato,  $t=0$ ; (E4) Extrato,  $t=4$  dias; (E8) Extrato,  $t=8$  dias. © ANA CARVALHO

### 6.5.2. pH, aw, Extrato Seco, Gordura e Proteína.

Em todos os queijos, verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre o **pH** (ANOVA Welch;  $F(2,24)=5513,855$ ;  $p<0,001$  (**controle**)), (ANOVA;  $F(2,24)=402,161$ ;  $p<0,001$  (**biomassa**)) e (ANOVA;  $F(2,24)=22,115$ ;  $p<0,001$  (**extrato**)) (tabela 6.12).

Relativamente ao **aw** (tabela 6.12), não apresentou diferenças significativas ao longo do tempo para o queijo com adição de **extrato** (ANOVA,  $F(2,6)=0,986$ ,  $p=0,046$ ), ao contrário dos demais queijos que foram variando de forma estatisticamente significativa (ANOVA,  $F(2,6)=43,731$ ;  $p<0,001$  (**controle**)) e (ANOVA,  $F(2,6)=8,000$ ;  $p=0,020$  (**biomassa**)).

Em todos os queijos para **extrato seco** (tabela 6.12), foram verificadas diferenças estatisticamente significativas ao longo do tempo (ANOVA, Welch  $F(2,6)=25,688$ ;  $p=0,006$  (**controle**)), ANOVA, Welch  $F(2,6)=278,178$ ;  $p<0,001$  (**biomassa**) e (ANOVA, Welch  $F(2,6)=10,652$ ;  $p=0,003$  (**extrato**)).

A **gordura** (tabela 6.12) apresentou um efeito estatisticamente significativo para os queijos com adição de **biomassa** (ANOVA, Welch  $F(2,6)=30,371$ ;  $p=0,004$ ) e **extrato** (ANOVA,  $F(2,6)=64,500$ ;  $p<0,001$ ). Para os queijos **controle** (ANOVA  $F(2,6)=5,143$ ,  $p=0,05$ ), não se verificou qualquer efeito. Pôde-se observar que, ao longo do tempo, o percentual de gordura aumentou para todas as amostras, e este fenômeno também pôde ser observado no trabalho de Caleja *et al.* (2016).

Para **proteína** (tabela 6.12), verificou-se que o tempo não teve um efeito significativo em nenhum dos tipos de queijo (teste t,  $p=0,099$  (**controle**)),  $p=0,604$  (**biomassa**) e  $p=0,733$  (**extrato**). Verruk e Prudêncio (2018), em seus queijos frescos de cabras produzidos para  $t=0$ , o valor de proteína foi de  $27,06\pm 0,19\%$ , um valor bastante similar ao obtido neste trabalho.

Tabela 6.12 Resultados das análises químicas (pH, aw, extrato seco, gordura e proteína). Teste com *C. maritimum* adicionado após a coagulação (Lote 5) (Tempo de duração: 8 dias).

	Tratamento	t=0	t=4	t=8
<b>pH</b>	<b>Biomassa</b>	6,47±0,04 <sup>b</sup>	6,82±0,08 <sup>a</sup>	5,96±0,06 <sup>c</sup>
	<b>Extrato</b>	6,55±0,03 <sup>b</sup>	6,82±0,30 <sup>a</sup>	6,20±0,17 <sup>c</sup>
	<b>Controle</b>	6,52±0,01 <sup>b</sup>	6,98±0,01 <sup>a</sup>	6,23±0,02 <sup>c</sup>
<b>aw</b>	<b>Biomassa</b>	0,978±0,00 <sup>a</sup>	0,962±0,00 <sup>b</sup>	0,967±0,00 <sup>a,b</sup>
	<b>Extrato</b>	0,967±0,00 <sup>a</sup>	0,971±0,00 <sup>a</sup>	0,966±0,00 <sup>a</sup>
	<b>Controle</b>	0,980±0,00 <sup>a</sup>	0,973±0,00 <sup>a</sup>	0,958±0,00 <sup>b</sup>
<b>Extrato Seco (%)</b>	<b>Biomassa</b>	31,33±0,63 <sup>c</sup>	36,1±0,43 <sup>b</sup>	40,9±3,00 <sup>a</sup>
	<b>Extrato</b>	32,67±2,99 <sup>b</sup>	35,32±0,50 <sup>a,b</sup>	39,29±0,30 <sup>a</sup>
	<b>Controle</b>	37,70±1,1 <sup>a</sup>	34,87±0,80 <sup>b</sup>	39,53±0,40 <sup>a</sup>
<b>Gordura (%)</b>	<b>Biomassa</b>	15,8±1,04 <sup>b</sup>	16,3±1,30 <sup>b</sup>	21,5±0,50 <sup>a</sup>
	<b>Extrato</b>	16,0±0,00 <sup>c</sup>	17,7±0,60 <sup>b</sup>	20,3±0,58 <sup>a</sup>
	<b>Controle</b>	18,3±1,20 <sup>a,b</sup>	17,3±0,60 <sup>b</sup>	19,3±0,30 <sup>a</sup>
<b>Proteína (%)</b>	<b>Biomassa</b>	30,96±1,52 <sup>a</sup>	30,46±0,41 <sup>a</sup>	-
	<b>Extrato</b>	28,88±2,27 <sup>a</sup>	29,48±1,65 <sup>a</sup>	-
	<b>Controle</b>	33,34±2,23 <sup>a</sup>	29,62±0,31 <sup>a</sup>	-

Valores com índices (a–c) diferentes na mesma linha, dentro do conjunto “Biomassa”, “Extrato”, ou “Controlo”, apresentam diferenças estatisticamente significativas (Teste HSD de Tukey,  $p < 0,05$ ).

Por indisponibilidade de liofilizador para a preparação da amostra, não foi determinada a percentagem de proteína no tempo  $t=8$ .

### 6.5.3. Atividade antioxidante

Na tabela 6.13 apresentam-se os resultados da atividade antioxidante para o lote 5.

Tabela 6.13 Atividade antioxidante (%) de queijo (Lote 5) funcionalizado com extrato e biomassa de *C. maritimum*, determinada pelo método de DPPH.

Tratamento Conc. (mg/mL)	Biomassa		Extrato		Controlo	
	t=0	t=4	t=0	t=4	t=0	t=4
200	32,9±3,60	72,0±6,22	29,1±4,27	82,2±6,00	12,2±1,77	84,8±7,51
100	20,5±1,54	37,1±8,40	23,3±2,47	32,2±3,22	15,5±6,03	54,8±11,11
50	10,6±3,97	34,7±8,99	27,8±3,61	18,2±1,99	8,7±1,62	39,0±5,2
25	4,30±2,62	21,6±5,97	26,9±1,54	9,3±2,34	8,3±1,35	28,1±1,94
12,5	1,2±1,42	18,8±3,07	31,3±1,01	6,4±1,83	10,2±2,84	22,5±1,32
6,25	SA	15,4±2,14	28,3±1,18	3,5±2,23	6,00±1,45	18,5±1,52
3,12	SA	11,7±3,33	30,4±1,94	1,4±1,43	8,6±0,81	13,6±1,64
1,5	SA	12,8±3,48	30,5±1,22	0,4±2,04	6,9±0,65	14,1±1,35

Os valores apresentados referem-se a médias  $\pm$  desvio padrão, e foram obtidas a partir de 6 replicas. SA – Sem Atividade.

Apenas foi observada atividade antioxidante significativa para o  $t = 4$  do lote 5 (tabela 6.13), tendo-se obtido um valor de  $EC_{50} = 61,94 \pm 7,322$  mg/mL, para o queijo controlo,  $EC_{50} = 119,90 \pm 5,30$  mg/mL para o queijo com adição de extrato e  $EC_{50} = 112,93 \pm 5,65$  mg/mL para queijo com adição de biomassa. Siracusa *et al.* (2011) relatou uma atividade antioxidante forte de infusões de *C. maritimum*, de cerca de 88% a uma concentração de 0,4 g/L. Pereira *et al.* (2017) também teve resultados similares aos de Siracusa, onde a capacidade de eliminação do radical ABTS das decocções de folhas do funcho do mar foi de 86,6 e 88%.

Como descrito anteriormente neste trabalho, o respetivo lote sofreu uma contaminação, sendo este o único fator que o difere dos demais. Apesar das análises microbiológicas realizadas entretanto serem inconclusivas para se afirmar qual microrganismo possa ter influenciado neste resultado, a literatura corrobora o fato da presença de fungos ou bactérias terem atividade antioxidante, como por exemplo, no trabalho de Alves *et al.* (2020), onde foram utilizados três fungos (2 do gênero *Dichotomophthora* e o *Aspergillus nidullans*), e todos apresentaram ótima atividade antioxidante contra o radical DPPH quando comparados ao controlo quercetina. Bem como Pieniz *et al.* (2015), que observou que apenas as culturas sobrenadantes de bactérias ácido lácticas apresentaram capacidade antioxidante.

#### 6.5.4. *E. coli*

A ocorrência de amostras positivas para *E. coli* no queijo com adição de **biomassa** (Tabela 6.14) poderá indicar uma contaminação após tratamento térmico, devido à manipulação ou contato com superfícies contaminadas. No caso do queijo **controle**, foi detetada uma contaminação por *E. coli*, mas os resultados não foram coerentes, pelo que não se apresentaram. No queijo produzido com adição de **extrato**, não foi detetada contaminação por *E. coli*. Yamanaka, *et al.* (2016), relatou que 56,3 % das amostras de queijos artesanais prontos para o consumo (18/32) apresentaram valores entre 2.4 e 6.3 log ufc/g, valores próximos aos encontrados nestas amostras.

Tabela 6.14 Pesquisa para *E. coli*. Teste com biomassa de *C. maritimum* adicionado após a coagulação (Lote 5) (Tempo de duração: 8 dias)

Tempo	Biomassa (log ufc/g)
t=0	<1
t=4	3,85±0,03
t=8	4,81±0,01

#### 6.5.5. *Staphylococcus coagulase positiva*

Relativamente à pesquisa para *Staphylococcus coagulase positiva*, todas as amostras apresentaram contagens inferiores a 10 ufc/g, o que significa que estão conformes com a legislação em vigor, que indica valores <10 ufc/g (Regulamento 1441/2007). Estes resultados são melhores que os encontrados por Yamanaka *et al.* (2016), onde foram detetadas *Staphylococcus coagulase positivos* em 23,1 % das amostras.

#### 6.5.6. *Listeria monocytogenes*

Nenhuma das amostras testou positivo para *L. monocytogenes*, ou qualquer outro microrganismo do género *Listeria*. Assim como Valente (2013), em todas as suas amostras analisadas dos diferentes sublotos (inclusive com óregãos) de novos queijos desenvolvidos, se verificou a ausência de *L. monocytogenes*.

#### 6.5.7. Microrganismos a 30 °C

Os resultados apresentados na tabela 6.15 parecem indicar que a adição de plantas teve efeito no prolongamento do tempo de conservação útil dos queijos em estudo, uma vez que os queijos com adição de plantas obtiveram menos 1 (extrato) e 2 (biomassa) valores logarítmicos em relação ao controle para t=0. Entretanto, esse efeito esvaiu-se no tempo até atingir os 8 dias. Garcia *et al.* (2016) apresentou uma elevada contagem de bactérias aeróbias mesófilas, com valores >2,5x10<sup>8</sup> ufc/g para as 18 amostras analisadas de queijos frescos artesanais comercializados em Minas Gerais.

Tabela 6.15 Pesquisa para Microrganismos a 30 °C. Teste com *C. maritimum* adicionado após a coagulação (Lote 5) (Tempo de duração: 8 dias).

Tempo	Biomassa (log ufc/g)	Extrato (log ufc/g)	Controlo (log ufc/g)
t=0	2,53±0,23	3,72±0,08	4,61±0,17
t=4	7,02±0,00	7,78±0,01	(1)
t=8	8,30±0,56	8,78±0,09	8,60±0,02

(1) Não determinado.

### 6.5.8. Bolores e leveduras

A adição de *C. maritimum* (Tabela 6.16) parece não ter tido efeito sobre o desenvolvimento de bolores para o queijo com adição de biomassa. Já com relação ao queijo controlo e com adição de extrato o desenvolvimento de bolores, é bem similar e pouco significativo, surgindo apenas em t=8. Relativamente às leveduras, parece existir alguma alteração (cerca de mais um valor logarítmico) pela adição da planta, quer sob a forma de biomassa, quer sob a forma de extrato, quando comparado ao controlo.

Neste lote, verificou-se que a contagem inicial de bolores e leveduras foi muito baixa em todos os queijos, assim como no trabalho de Agboola e Radovanovic-Tesic (2002) onde os valores não foram superiores a  $10^2$  ufc/g na mesma fase.

Tabela 6.16 Pesquisa para Fungos. Teste com *C. maritimum* adicionado após a coagulação (Lote 5) (Tempo de duração: 8 dias)

	Tempo	Biomassa (log ufc/g)	Extrato (log ufc/g)	Controlo (log ufc/g)
Leveduras	t=0	2,00±0,00	<1	<1
	t=4	3,67±0,27	3,89±0,22	2,10±0,14
	t=8	4,44±0,11	4,88±0,21	3,62±0,33
Bolores	t=0	<1	<1	<1
	t=4	<1	<1	<1
	t=8	<1	2,67±0,12	2,46±0,12

### 6.6. *Crithmum maritimum* – Adição de extrato e biomassa antes da coagulação – teste preliminar (lote 6)

Este lote serviu para verificar se a adição do extrato e da biomassa *C. maritimum* prejudicaria ou traria qualquer tipo de alteração no processo de coagulação, processo este que ocorreu normalmente, podendo-se então produzir o queijo, a partir do qual foram realizadas análises para cor e pH para t=0 dias.

#### 6.6.1. Cor

Com relação à influência do tratamento (controlo, biomassa, extrato) sobre todas as variáveis dependentes **L**, **a**, **b** e **C**, os resultados foram considerados estatisticamente diferentes (ANOVA,  $p < 0,001$  para todos). Verifica-se no entanto, que entre o queijo

**controle** e o com adição de **extrato**, as diferenças são mais ligeiras (Tukey HSD,  $p=0,524$  e  $p=0,119$  para **L** e **a**, respetivamente (tabela 6.17).

Esses resultados podem dever-se à tonalidade da biomassa, a qual, ao ser misturada diretamente no leite, teve influência direta na cor dos queijos estudados.

Tabela 6.17 Análise de cor para teste preliminar com *C. maritimum* antes da coagulação.

Cor	Biomassa	Extrato	Controlo
<b>L</b>	74,52±1,63 <sup>b</sup>	80,76±1,50 <sup>a</sup>	81,24±1,01 <sup>a</sup>
<b>a</b>	-1,62 ±0,13 <sup>b</sup>	-0,55 ± 0,19 <sup>a</sup>	-0,45±0,18 <sup>a</sup>
<b>b</b>	8,46±0,57 <sup>a</sup>	4,21 ± 0,28 <sup>b</sup>	3,81±0,15 <sup>c</sup>
<b>C</b>	8,62±0,56 <sup>a</sup>	4,25 ± 0,26 <sup>b</sup>	3,85±0,14 <sup>c</sup>

Valores com índices (a—c) diferentes na mesma linha, apresentam diferenças estatisticamente significativas (Teste HSD de Tukey,  $p<0,05$ ).

L: luminosidade; a: componente verde-vermelho; b: componente azul-amarelo; C: cromaticidade.

Biomassa – adição de planta sob a forma de biomassa; extrato – adição de planta sob a forma de extrato; controlo – sem adição de planta

### 6.6.2. pH

A tabela 6.18 mostra que a adição das plantas, quer sob a forma de biomassa, quer sob a forma de extrato, teve um efeito estatisticamente pouco significativo (ANOVA,  $F(2,24)=3,896$ ;  $p=0,034$ ) para **pH** nos queijos estudados. Este resultado pode ser corroborado pelo Teste Tukey HSD, o qual demonstra que apenas os tratamentos **biomassa** e **controlo** são significativamente diferentes ( $p=0,028$ ). As restantes interações apresentam  $p>0,216$ .

Tabela 6.18 Análise de pH para teste preliminar com *C. maritimum* antes da coagulação.

Tratamento	t=0
<b>Biomassa</b>	6,56 ±0,04 <sup>a</sup>
<b>Extrato</b>	6,54 ±0,01 <sup>a,b</sup>
<b>Controlo</b>	6,52±0,01 <sup>b</sup>

Valores com índices (a—b) diferentes, apresentam diferenças estatisticamente significativas (Teste HSD de Tukey,  $p<0,05$ ).

## 6.7. *Crithmum maritimum* - Adição de extrato e biomassa antes da coagulação (lote 8)

### 6.7.1. Cor

No caso dos queijos **controlo** (tabela 6.19), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre **L**, **a**, **b** e **C**, (ANOVA,  $F(2,81)=23,316$ ;  $p<0,001$ ); (ANOVA Welch,  $F(2,60)=175,392$ ;  $p<0,001$ ); (ANOVA,  $F(2, 60)=16,817$ ;  $p<0,001$ ) e (ANOVA,  $F(2,66)=12,120$  ( $p<0,001$ ), respetivamente.

No que respeita à variável **a**, verificou-se que o valor foi descendo, o que indica que o queijo pode ter ficado esverdeado no decorrer do tempo.

Nos queijos produzidos com adição de **biomassa** (tabela 6.19), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre as variáveis **L**, **a**, **b** e **C** (ANOVA,  $F(2,87)=8,403$ ;  $p<0,001$ ) e (ANOVA Welch,  $F(2,84)=114,909$ ;  $p<0,001$ ), (ANOVA Welch,  $F(2,87)=9,736$ ;  $p=0,001$ ) e (ANOVA,  $F(2,87)=11,609$ ;  $p<0,001$ ), respetivamente.

A luminosidade (**L**) diminuiu ligeiramente ao longo do tempo. Relativamente à variável **a**, verificou-se um aumento do seu valor na amostra enriquecida com biomassa. Este resultado indicou que, com o tempo, o queijo foi atingindo tons menos esverdeados.

Carocha *et al.* (2015) também obteve um resultado semelhante para o parâmetro **a**, cujos os valores de todas as amostras foram próximos a zero, o que indicou a ausência de cores vermelhas ou verdes intensas, apesar da incorporação da planta *M. officinalis* desidratada.

A cor amarela (**b**) parece ter-se intensificado ao longo do tempo, mas apenas entre os tempos  $t=4$  e  $t=8$ , em que se verificaram diferenças estatisticamente significativas (Teste HSD de Tukey,  $p<0,001$ ).

No caso dos queijos produzidos com adição de **extrato** (tabela 6.19), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre **L**, **a**, **b** e **C**, (ANOVA,  $F(2,87)=34,911$ ;  $p<0,001$ ); (ANOVA Welch,  $F(2,87)=18,869$ ;  $p<0,001$ ); (ANOVA,  $F(2,87)=67,190$ ;  $p<0,001$ ) e (ANOVA,  $F(2,87)=83,796$ ;  $p<0,001$ ), respetivamente.

A luminosidade (**L**) diminuiu ligeiramente ao longo do tempo, com diferenças estatisticamente significativas (Teste de HSD de Tukey,  $p<0,001$ ) entre os tempos  $t=4$  e  $t=8$ . Por outro lado, para a variável **a**, verificou-se um aumento do seu valor na amostra enriquecida com extrato; porém, no início do estudo (entre  $t=0$  e  $t=4$ ), não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas (Teste de HSD de Tukey,  $p=0,569$ ), o que indicou que só a partir do dia 5 o queijo atingiu tons mais distantes da cor verde.

As variáveis **b** e **C** aumentaram ao longo do tempo, o que indicou um ligeiro aumento do tom amarelo ao longo do período em estudo, confirmado pelo aumento da intensidade da cor (Cromaticidade).

Resultados similares a estes foram encontrados trabalho de Rohm e Jaros (1997), onde tanto os valores **a** quanto **b** aumentaram significativamente ao longo do tempo; em paralelo, a variável **L** que diminuiu.

No decorrer do tempo, o lote 8 apresentou alterações físicas pouco visíveis, como se pode observar na Figura 6.4.

Tabela 6.19 Avaliação de Cor. Teste com *C. maritimum* adicionado antes da coagulação (Lote 8) (Tempo de duração: 8 dias).

Tratamento <sup>1</sup>	Biomassa			Extrato			Controlo		
	t=0	t=4	t=8	t=0	t=4	t=8	t=0	t=4	t=8
<b>L</b>	74,76±1,51 <sup>a</sup>	73,56±2,32 <sup>b</sup>	73,11±0,45 <sup>b</sup>	80,44±1,48 <sup>a</sup>	80,76±0,44 <sup>a</sup>	78,78±0,19 <sup>b</sup>	80,76±1,83 <sup>b</sup>	81,55±0,25 <sup>a</sup>	79,58±0,36 <sup>c</sup>
<b>a</b>	-1,57±0,15 <sup>c</sup>	-1,03±0,14 <sup>a</sup>	-1,28±0,11 <sup>b</sup>	-0,57±0,19 <sup>a</sup>	-0,52±0,26 <sup>a</sup>	-0,81±0,09 <sup>b</sup>	-0,48±0,09 <sup>a</sup>	-0,50±0,03 <sup>a</sup>	-0,79±0,05 <sup>b</sup>
<b>b</b>	8,15±0,41 <sup>a,b</sup>	7,85±0,66 <sup>b</sup>	8,46±0,52 <sup>a</sup>	3,89±0,31 <sup>c</sup>	4,13±0,10 <sup>b</sup>	4,61±0,27 <sup>a</sup>	3,68±0,18 <sup>a</sup>	3,48±0,08 <sup>b</sup>	3,66±0,07 <sup>a</sup>
<b>C</b>	8,32±0,37 <sup>a</sup>	7,91±0,67 <sup>b</sup>	8,56±0,50 <sup>a</sup>	3,95±0,28 <sup>c</sup>	4,17±0,11 <sup>b</sup>	4,68±0,25 <sup>a</sup>	3,67±0,23 <sup>a</sup>	3,53±0,08 <sup>b</sup>	3,73±0,06 <sup>a</sup>

Valores com índices (a—c) diferentes na mesma linha, dentro do conjunto “Biomassa”, “Extrato”, ou “Controlo”, apresentam diferenças estatisticamente significativas (Teste HSD de Tukey,  $p < 0,05$ ).

L: luminosidade; a: componente verde-vermelho; b: componente azul-amarelo; C: cromaticidade.

<sup>1</sup>Tratamento: Biomassa – adição de planta sob a forma de biomassa; extrato – adição de planta sob a forma de extrato; controlo – sem adição de planta





Figura 64. *C. maritimum* – adição de extrato e biomassa antes da coagulação (lote 8). (C0) Controlo, t=0; (C4) Controlo, t=4 dias; (C8) Controlo, t=8 dias; (B0) Biomassa, t=0; (B4) Biomassa, t=4 dias; (B8) Biomassa, t=8 dias; (E0) Extrato, t=0; (E4) Extrato, t=4 dias; (E8) Extrato, t=8 dias. © ANA CARVALHO

### 6.7.2. pH, $a_w$ , Extrato Seco, Gordura e Proteína

Para todos os queijos, verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre o pH (ANOVA Welch,  $F(2,24)=2238,079$ ;  $p<0,001$  (**controlo**); ANOVA,  $F(2,24)=2856,055$ ;  $p<0,001$  (**biomassa**) e ANOVA Welch,  $F(2,24)=10792,923$ ;  $p<0,001$  (**extrato**)) (tabela 6.20).

Relativamente ao  $a_w$  (tabela 6.20), o tempo teve um efeito estatisticamente significativo para todos os queijos (ANOVA Welch,  $F(2,6)=72,333$ ;  $p=0,001$  (**controlo**); ANOVA Welch,  $F(2,6)=36,571$ ;  $p=0,001$  (**biomassa**) e ANOVA Welch,  $F(2,6)=12,216$ ;  $p=0,013$  (**extrato**)).

Resultados semelhantes para pH e  $a_w$  foram obtidos no trabalho de Dias (2020) onde, no primeiro dia (T0), obteve-se um valor de pH na ordem de  $6,61 \pm 0,02$  e um valor de  $a_w$  de  $0,9889 \pm 0,0005$ .

O **extrato seco** (tabela 6.20) apresentou diferenças significativas ao longo do tempo para todos os tipos de queijo (ANOVA Welch,  $F(2,6)=188,351$ ;  $p=0,002$  (**controlo**); ANOVA,  $F(2,6)=6,438$ ;  $p=0,032$  (**biomassa**) e ANOVA Welch,  $F(2,6)=58,980$ ;  $p=0,001$  (**extrato**)).

A **gordura** (tabela 6.20) variou de forma estatisticamente significativa com o tempo para todos os tipos de queijo (ANOVA Welch,  $F(2,6)=29,786$ ;  $p=0,008$  (**controle**); ANOVA Welch,  $F(2,5)=174,570$ ;  $p<0,001$  (**biomassa**) e ANOVA Welch,  $F(2,6)=19,500$ ;  $p=0,008$  (**extrato**)).

Para **proteína** (tabela 6.20), verificou-se que o tempo teve um efeito estatisticamente significativo sobre os queijos com adição de **biomassa** (teste t,  $p=0,05$ ), mas não sobre os queijos **controle** e com adição de **extrato** (teste t,  $p=194$  e  $p=0,104$ , respectivamente).

No trabalho de Santos (2015), nas amostras dos queijos frescos de cabra analisadas, o perfil nutricional foi caracterizado com um teor de 39% de proteína-bruta em resíduo seco. Esse resultado é superior ao obtido neste trabalho, onde os valores para este lote rondaram entre 24 e 31,75%.

Tabela 6.20 Resultados das análises químicas (pH,  $a_w$ , extrato seco, gordura e proteína). Teste com *C. maritimum* adicionado antes da coagulação (Lote 8) (Tempo de duração: 8 dias).

	Tratamento	t=0	t=4	t=8
pH	Biomassa	6,85±0,01 <sup>a</sup>	6,22±0,02 <sup>b</sup>	6,14±0,03 <sup>c</sup>
	Extrato	6,86±0,01 <sup>a</sup>	6,25±0,01 <sup>b</sup>	6,21±0,01 <sup>c</sup>
	Controle	6,64±0,01 <sup>a</sup>	6,26±0,01 <sup>b</sup>	6,22±0,02 <sup>c</sup>
$a_w$	Biomassa	0,981±0,00 <sup>a</sup>	0,965±0,00 <sup>b</sup>	0,965±0,00 <sup>b</sup>
	Extrato	0,962±0,00 <sup>b</sup>	0,976±0,00 <sup>a</sup>	0,954±0,00 <sup>b</sup>
	Controle	0,984±0,00 <sup>a</sup>	0,973±0,00 <sup>b</sup>	0,969±0,00 <sup>b</sup>
Extrato Seco (%)	Biomassa	35,03±0,21 <sup>b</sup>	38,17±1,69 <sup>a,b</sup>	38,90±1,73 <sup>a</sup>
	Extrato	34,63±0,64 <sup>c</sup>	40,03±1,70 <sup>b</sup>	45,77±1,19 <sup>a</sup>
	Controle	31,67±0,75 <sup>c</sup>	37,23±0,15 <sup>b</sup>	39,33±0,40 <sup>a</sup>
Gordura (%)	Biomassa	19,0±0,50 <sup>b</sup>	16,0±0,00 <sup>c</sup>	22,2±0,29 <sup>a</sup>
	Extrato	17,0±0,50 <sup>b</sup>	16,0±0,10 <sup>b</sup>	19,5±0,50 <sup>a</sup>
	Controle	15,3±0,29 <sup>b</sup>	14,2±0,30 <sup>b</sup>	18,0±0,01 <sup>a</sup>
Proteína (%)	Biomassa	24,20±1,94 <sup>a</sup>	31,50±1,02 <sup>a</sup>	-
	Extrato	27,53±2,08 <sup>a</sup>	31,75±2,80 <sup>a</sup>	-
	Controle	29,08±0,90 <sup>a</sup>	30,17±0,81 <sup>a</sup>	-

Valores com índices (a—c) diferentes na mesma linha, dentro do conjunto “Biomassa”, “Extrato”, ou “Controle”, apresentam diferenças estatisticamente significativas (Teste HSD de Tukey,  $p<0,05$ ).

Por indisponibilidade de liofilizador para a preparação da amostra, não foi determinada a percentagem de proteína no tempo t=8.

### 6.7.3. Atividade Antioxidante

Os resultados da atividade antioxidante para o lote 8 estão apresentados na Tabela 6.21.

Apesar deste trabalho não obter resultados significativos para a atividade antioxidante, possivelmente devido à quantidade de extrato ou alguma degradação sofrida durante o fabrico do queijo, de acordo com Meot-Duros e Magné (2009), as folhas de *Crithmum maritimum* apresentaram forte atividade antioxidante total ao longo do ano, estes resultados também foram encontrados por Pereira *et al.* (2020), onde extratos aquosos

foram preparados para equivaler a uma xícara de chá (1 g de material vegetal seco (funcho do mar) para 200 mL de água destilada), em que obtiveram entre 86,6 e 88,0% de atividade antioxidante, determinada através do método ABTS.

Tabela 6.21 Atividade antioxidante (%) de queijo (Lote 8) funcionalizado com extrato e biomassa de *C. maritimum*, determinada pelo método de DPPH.

Tratamento Conc. (mg/mL)	Biomassa		Extrato		Controlo	
	t=0	t=4	t=0	t=4	t=0	t=4
200	13,6±1,33	30,8±8,19	30,2±2,96	19,2±9,94	21,8±1,33	19,8±1,92
100	2,3±5,68	14,3±4,21	20,4±5,30	5,3±2,65	9,7±4,13	6,1±3,86
50	2,6±3,93	2,3±2,05	17,3±8,61	1,6±1,12	9,3±1,95	7,1±5,71
25	SA	1,9±2,50	12,2±5,33	SA	4,4±1,82	SA
12,5	SA	SA	7,6±0,87	0,5±9,93	8,0±6,01	SA
6,25	SA	SA	6,8±1,79	6,9±1,04	2,8±1,38	SA
3,12	SA	SA	4,2±1,40	SA	2,7±2,79	SA
1,5	SA	SA	5,0±1,00	SA	1,9±1,75	SA

Os valores apresentados referem-se a médias ± desvio padrão, e foram obtidas a partir de 6 replicas. SA – Sem Atividade.

#### 6.7.4. *E. coli*

Relativamente a enumeração para *E. coli*, todas as amostras apresentaram contagens inferiores a 10 ufc/g, o que indica que, relativamente a este parâmetro, o queijo estava próprio para o consumo em todos os tempos analisados. O máximo admissível seria 100 ufc/g (Regulamento 1441/2007). Os resultados obtidos neste trabalho diferem dos encontrados por Valente (2013), onde os queijos produzidos com orégãos apresentaram valores significativos ao longo do tempo do estudo (45 dias).

#### 6.7.5. *Staphylococcus coagulase positiva*

Relativamente à pesquisa para *Staphylococcus coagulase positivos*, todas as amostras apresentaram contagens inferiores a 10 ufc/g, o que significa que estão conformes com a legislação em vigor, que indica valores entre <10 ufc/g (Regulamento 1441/2007). Um resultado similar foi encontrado no trabalho de Presente (2016), onde para as bactérias do grupo *Staphylococcus aureus*, todos os queijos com óleo essencial de orégano, gengibre e mistos que foram produzidos não apresentaram crescimento destes microrganismos.

#### 6.7.6. *Listeria monocytogenes*

Nenhuma das amostras testou positivo para *L. monocytogenes* ou qualquer outro microrganismo do género *Listeria*. Yamanaka *et al.* (2016) também não detetou *L. monocytogenes* em suas amostras, contudo em 6,3% (2/32) dessas amostras foi detetada a presença de *Listeria spp.*

### 6.7.7. Microrganismos a 30 °C

Os resultados apresentados na tabela 6.22 parecem indicar que a adição de plantas não teve efeito no prolongamento do tempo de conservação útil dos queijos em estudo, uma vez que os 3 tipos de queijo apresentam valores semelhantes no final do ensaio. No caso da adição do extrato e da biomassa, aos 4 dias os queijos apresentam 4 valores logarítmicos a mais que o controlo, mas essa diferença fica pouco significativa com o decorrer do tempo até atingir os 8 dias.

Este resultado difere do encontrado por Presente (2016), onde verificou-se que no dia da produção, todos os quatro tipos de queijos (frescos com adição de óleos essenciais de orégano e gengibre) não apresentaram crescimento de microrganismos mesófilos aeróbios, o que indica ótima qualidade higiênico-sanitária durante todo o processamento dos queijos.

Tabela 6.22 Pesquisa para Microrganismos a 30 °C. Teste com *C. maritimum* adicionado antes da coagulação (Lote 8) (Tempo de duração: 8 dias).

Tempo	Biomassa (log ufc/g)	Extrato (log ufc/g)	Controlo (log ufc/g)
0	2,35±0,23	2,48±0,12	<1
t=4	6,02±0,11	6,19±0,04	2,40±0,24
t=8	8,16±0,12	7,65±0,04	7,36±0,04

### 6.7.8. Bolores e Leveduras

A adição de *C. maritimum* parece ter tido um efeito negativo sobre o desenvolvimento de bolores, quando adicionado sob a forma de biomassa e sob a forma de extrato. Talvez a biomassa estivesse contaminada com alguns bolores que se desenvolvem no ambiente muito propício que é o queijo.

Relativamente às leveduras, no queijo com adição do extrato já apresenta colónias em t=4, ao contrário dos outros queijos. Entretanto, ao fim do ensaio tanto para o queijo adicionado de biomassa quanto para o queijo com adição de extrato os valores foram semelhantes, já o queijo controlo permanece, ao longo do ensaio, com valores insignificantes (tabela 6.23).

Como no queijo controlo, Bintsis (2021) verificou um interessante resultado onde durante o processo de maturação do queijo de ovelha não se observou o aparecimento de fungos.

Tabela 6.23 Pesquisa para Fungos. Teste com *C. maritimum* adicionado antes da coagulação (Lote 8) (Tempo de duração: 8 dias)

	Tempo	Biomassa (log ufc/g)	Extrato (log ufc/g)	Controlo (log ufc/g)
Leveduras	0	<1	<1	<1
	t=4	<1	2,78±0,31	<1
	t=8	3,57±0,22	3,03±0,25	<1
Bolores	t=0	<1	<1	<1
	t=4	<1	<1	<1
	t=8	3,08±0,15	2,23±0,17	<1

## 6.8. Efeito dos métodos de fabrico nos parâmetros químicos (pH, a<sub>w</sub>, extrato seco, gordura e proteína).

### 6.8.1. Adição de *Helichrysum picardii*

O facto das adições de **biomassa** e de **extrato** serem feitas antes ou após a coagulação (Tabela 6.24), apresenta um efeito significativo no **pH** do queijo (teste t, p<0,001).

A adição de **biomassa** e de **extrato** antes ou após a coagulação não apresenta um efeito significativo na **a<sub>w</sub>** do queijo (teste t, p=0,279 e p=0,192, respectivamente).

A adição de **biomassa** antes ou após a coagulação apresenta um efeito significativo no **ES** do queijo (teste t, p=0,029). Já a adição de **extrato** antes ou após a coagulação não apresenta um efeito significativo no **ES** do queijo (teste t, p=0,770).

A adição de **biomassa** antes ou após a coagulação apresenta um efeito significativo na **gordura** do queijo (teste t, p=0,001). No caso da adição de **extrato**, esta não apresenta um efeito significativo na **gordura** do queijo (teste t, p=0,561), quer seja adicionada antes ou após a coagulação.

### 6.8.2. Adição de *Crithmum maritimum*

O facto das adições de **biomassa** e de **extrato** serem feitas antes ou após a coagulação (Tabela 6.24) apresenta um efeito significativo no **pH** do queijo (teste t, p<0,01 para ambos).

Tabela 6.24 Comparação entre os dois métodos de produção. Adição de biomassa e extrato antes e depois da coagulação.

Parâmetro	Tratamento	Antes da coagulação (Lote 7)	Após a coagulação (Lote 4)
<i>Helichrysum picardii</i>			
<b>pH</b>	Biomassa	6,93±0,01 <sup>a</sup>	6,53±0,16 <sup>b</sup>
	Extrato	6,97±0,01 <sup>a</sup>	6,57±0,01 <sup>b</sup>
<b>a<sub>w</sub></b>	Biomassa	0,979±0,02 <sup>a</sup>	0,913±0,10 <sup>a</sup>
	Extrato	0,972±0,00 <sup>a</sup>	0,974±0,00 <sup>a</sup>
<b>Extrato seco (%)</b>	Biomassa	29,93±1,59 <sup>b</sup>	35,03±0,21 <sup>a</sup>
	Extrato	34,30±1,73 <sup>a</sup>	34,63±0,64 <sup>a</sup>
<b>Gordura (%)</b>	Biomassa	15,3±0,58 <sup>b</sup>	19,0±0,50 <sup>a</sup>
	Extrato	17,3±0,76 <sup>a</sup>	17,0±0,50 <sup>a</sup>
<i>Crithmum maritimum</i>		<b>(Lote 8)</b>	<b>(Lote 5)</b>
<b>pH</b>	Biomassa	6,85±0,01 <sup>a</sup>	6,47 ±0,04 <sup>b</sup>
	Extrato	6,86±0,01 <sup>a</sup>	6,56 ±0,03 <sup>b</sup>
<b>a<sub>w</sub></b>	Biomassa	0,981±0,00 <sup>a</sup>	0,978±0,00 <sup>a</sup>
	Extrato	0,962±0,01 <sup>a</sup>	0,967 ±0,01 <sup>a</sup>
<b>Extrato seco (%)</b>	Biomassa	35,03±0,20 <sup>a</sup>	31,33 ±0,63 <sup>b</sup>
	Extrato	34,63±0,64 <sup>a</sup>	32,67 ±2,99 <sup>a</sup>
<b>Gordura (%)</b>	Biomassa	19,0±0,50 <sup>a</sup>	15,8 ±1,04 <sup>b</sup>
	Extrato	17,0±0,50 <sup>a</sup>	16,0±0,00 <sup>b</sup>
<b>Proteína (%)</b>	Biomassa	24,20±1,94 <sup>b</sup>	30,96±1,52 <sup>a</sup>
	Extrato	27,53±2,08 <sup>b</sup>	28,88±2,27 <sup>a</sup>

Valores com índices (a—b) diferentes na mesma linha, dentro do conjunto “Biomassa” ou “Extrato” apresentam diferenças estatisticamente significativas (Teste t,  $p < 0,05$ ).

A adição de **biomassa** e de **extrato** antes ou após a coagulação não apresenta um efeito significativo na  $a_w$  do queijo (teste t,  $p=0,074$  e  $p=0,505$  respectivamente).

A adição de **biomassa** antes ou após a coagulação apresenta um efeito significativo no **ES** do queijo (teste t,  $p=0,001$ ).

A adição de **biomassa** antes ou após a coagulação apresenta um efeito significativo na **gordura** do queijo (teste t,  $p=0,009$ ). No caso da adição de **extrato**, esta apresenta um efeito pouco significativo na **gordura** do queijo (teste t,  $p=0,026$ ) quando adicionada antes ou após a coagulação.

A adição de **biomassa** antes ou após a coagulação apresenta um efeito significativo na **proteína** do queijo (teste t,  $p=0,009$ ). No caso da adição de **extrato**, esta não apresenta um efeito significativo na **proteína** do queijo (teste t,  $p=0,490$ ) quer seja adicionada antes ou após a coagulação.

## 7. Conclusões

Durante a produção dos queijos, os rendimentos variaram entre 21-31%, um valor próximo ao encontrado na literatura para o queijo fresco de cabra.

Relativamente à **cor**, as amostras com *H. picardii*, independente do momento da adição ou sob a forma que a planta é adicionada, tendem todas a ficar mais amareladas, à exceção da amostra com adição de extrato antes da coagulação, cuja cor tende a ficar mais esverdeada ao longo do tempo. Para a *C. maritimum*, independente do momento da adição ou sob a forma que a planta é adicionada, as amostras apresentam variações similares.

No tocante ao **pH**, os valores foram sempre inferiores quando a adição das plantas se deu após a coagulação, independente da planta utilizada e da sua forma de adição (extrato, biomassa).

Para **a<sub>w</sub>**, concluiu-se que, independente das plantas, as amostras adicionadas com biomassa após a coagulação tinham valores inferiores comparativamente às amostras cuja adição ocorreu antes da coagulação. O contrário se observou para as amostras com adição de extrato, onde os valores mais baixos ocorreram quando a adição se deu antes da coagulação.

Com relação aos valores do **extrato seco** observou-se que as amostras com adição de **extrato** antes da coagulação, obtiveram valores superiores deste parâmetro ao longo do tempo, quando comparadas às amostras onde a adição do extrato ocorreu após a coagulação. O mesmo fenômeno foi observado nas amostras com adição de **biomassa**, mas apenas para o caso do *H. picardii*.

No que se refere à **gordura**, as amostras com adição de extrato e biomassa de *C. maritimum* após a coagulação sempre apresentam um valor superior (17-19%), comparativamente aquelas em que a planta foi adicionada antes da coagulação, que atingem valores de aproximadamente 16%.

Relativamente à **proteína**, apenas as amostras com adição de *C. maritimum* sob a forma de biomassa adicionada após a coagulação apresentaram uma variação significativa, atingido uma média de 30,97%, enquanto que aquelas cuja biomassa foi adicionada antes da coagulação obtiveram um valor de cerca de 24,20%.

Não parece haver nenhuma **propriedade antioxidante** significativa resultante da adição de *C. maritimum* nos queijos nas condições testadas.

Levando-se em conta o que foi observado durante as análises microbiológicas, percebeu-se que a adição das plantas não contribuiu para o desenvolvimento dos patógenos *E. coli*, *Staphylococcus* coagulase positivos e *L. monocytogenes*. Por outro lado, os resultados obtidos para a enumeração de microrganismos a 30 °C e fungos sugere que, nas condições deste estudo, nenhuma das plantas testadas apresentou qualquer **efeito antimicrobiano**.

## **8. Perspetivas futuras**

O facto do lote 5 apresentar atividade antioxidante apenas ao final de 4 dias de produção, conjugado com os elevados números do crescimento microbiano, pode indicar que a presença de alguns microrganismos possa ter influenciado o aumento de atividade nestas condições. Mais estudos deverão ser feitos, a fim de esclarecer esse resultado.

Uma vez que as plantas utilizadas são conhecidas como tendo atividade antioxidante, sugere-se aumentar a concentração do extrato, a fim de verificar se existe algum aumento da atividade antioxidante, ou se ela se perde por razões de processamento. No caso das duas plantas estudadas, a concentração de biomassa não poderá ser aumentada, pelo efeito desagradável que tem no paladar do queijo.

Outras plantas com reconhecida atividade antioxidante poderão ser testadas de modo a verificar se, no caso delas, conferem capacidade antioxidante este tipo de queijos. Para além disso, poder-se-á estudar se os seus teores de vitaminas, minerais ou outros nutrientes se mantêm ou melhoram para valores de biomassa que não afetem negativamente o sabor dos queijos.

Sugere-se ainda, que sejam feitos testes de aceitação com um painel de provadores/consumidores, para obter um conjunto significativo de resultados que permitam conclusões mais definitivas acerca da aceitabilidade dos queijos estudados.



## 9. Referências

- Abderrezak, K.; Amellal-Chibane, H.; Kessal, F., Halladj; F. (2018).** Effect of pomegranate peel and honey fortification on physicochemical, physical, microbiological and antioxidant properties of yoghurt powder. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 19 (1), 99-108. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.07.001>.
- Adams, M. R.; Moss, M. O.; McClure; P. J. (2016).** *Food Microbiology*. (4th ed.) Guildford, Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Agboola, S.; Radovanovic-Testic, M. (2002).** Influence of Australian Native Herbs on the Maturation of Vacuum-packed Cheese. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie - Food Science and Technology*, 35 (7), 575-583. <https://doi.org/10.1006/fstl.2002.0917>.
- Almeida, P.M.P.; Franco, R.M. (2003).** Avaliação bacteriológica de queijo tipo Minas Frescal com pesquisa de patógenos importantes à Saúde Pública: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp e Coliformes Fecais. *Arquivos do Instituto Biológico*, 78(2), 191-198. <https://doi.org/10.1590/1808-1657v78p1912011>.
- Alves, D. R.; Silva, W. M. B.; Santos, D. L. S.; Freire, F. C. O.; Vasconcelos, F. R.; Morais, S. M. (2020).** Atividades antioxidante, anticolinesterasica e citotóxica de metabolitos de fungos endofiticos. *Brazilian Journal of Development*, 6 (9), 73684-73691. DOI:[10.34117/bjdv6n9-721](https://doi.org/10.34117/bjdv6n9-721).
- Amorim, A. L. B. do C. (2013).** Avaliação da qualidade higiênica e sanitária de queijos tipo Minas Padrão de fabricação industrial, artesanal e informal. Monografia de conclusão de curso. Universidade de Brasilia/Faculdade de agronomia e Medicina veterinária. <https://bdm.unb.br/handle/10483/5953>.
- Amritkar, P. (2016).** Shelf Life - Understanding the Basics. Acedido em 02/03/2021 em: <https://www.linkedin.com/pulse/shelf-lifeunderstanding-basics-priti-amritkar>.
- AOAC. (1995).** Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists. 16th ed. Washington.
- Autran, C.; Gonzalez, J. (2006).** Caracterização colorimétrica das madeiras de muirapiranga (*Brosimum rubescens* Taub.) e de seringueira (*Hevea brasiliensis*, clone Tjir 16 Müll Arg.) visando à utilização em interiores. *Ciência Florestal*, 16(4), 445-451. doi: <https://doi.org/10.5902/198050981926>.
- Aviso (extrato) n.º 3895/2019.** Diário da República n.º 50/2019, Série II de 2019-03-12. Acedido em 26/12/2020 em: <https://dre.pt/web/guest/pesquisa/-/search/120847142/details/normal?l=1>.
- Azeredo, H. M. C. (2012).** Fundamentos de estabilidade de alimentos (2ª Edição Revista e Ampliada). Brasília, DF: Editora técnica, Embrapa.

- Barreira, L.; Resek, E.; Rodrigues, M.J.; Rocha, M.I.; Pereira, H.; Bandarra, N.; da Silva, M.M.; Varela, J.; Custodio, L. (2017).** Halophytes: Gourmet food with nutritional health benefits? *Journal of Food Composition and Analysis*, 59, 35-42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2017.02.003>.
- Barros, S. V. S.; Muniz, G.I.B.; Matos, J. L. M. (2014).** Caracterização colorimétrica das madeiras de três espécies florestais da Amazônia. *Cerne*, 23(3), 337-342. <https://doi.org/10.1590/01047760201420031421>.
- Ben Amor, N.; Ben Hamed, K.; Debez, A., Grignon, C.; Abdelly, C. (2005).** Physiological and antioxidant responses of the perennial halophyte *Crithmum maritimum* to salinity. *Plant Science*, 168 (4), 889-899. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.11.002>.
- Bintsis, T. (2021).** The microbiology of Kasserli cheese during the maturation. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 10 (03), 157-167. <https://doi.org/10.30574/wjarr.2021.10.3.0252>.
- Borges, L. R. (2013).** Análise de qualidade microbiológica (bolos e leveduras) em erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e identificação dos fungos potencialmente micotoxigenicos. Monografia para obtenção do grau de Bacharel. Setor de Ciências Biológicas. Universidade Federal do Paraná. <https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/32410/Monografia%20Laris%20Rolim%20Borges.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Braz, C.B.P. (2017).** Prolongamento da vida útil do queijo fresco. Dissertação para obtenção de Grau Mestre. Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa. <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/15848/1/Prolongamento%20da%20vida%20%C3%BAtil%20do%20queijo%20fresco-%20Catarina%20Braz.pdf>.
- Buffa, M. N.; Trujillo, A. J.; Pavia, M.; Guamis, B. (2001).** Changes in textural, microstructural, and colour characteristics during ripening of cheeses made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats' milk. *International Dairy Journal*, 11(11-12), 927-934. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00141-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00141-8).
- Bukvicki D.; Giweli A.; Stojkovic D.; Vujisic L.; Tesevic V.; Nikolic M.; Sokovic M.; Marin P. D. (2018).** Short communication: Cheese supplemented with *Thymus algeriensis* oil, a potential natural food preservative. *Journal of Dairy*, 101(5), 3859-3865. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13714>.
- Buriti, F. C. A. (2005).** Desenvolvimento de queijo fresco cremoso simbiótico. Dissertação para obtenção de grau Mestre. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo. doi:10.11606/D.9.2005.tde-17102005-140046.

- Caleja C.; Barros L.; Almicar A.; Ciric A. Barreira; J. C. M., Sokovik M.; Beatriz M.; Oliveira P. P.; Buelga C. S.; Ferreira C. F. R. (2015).** Development of a functional dairy food: Exploring bioactive and preservation effects of chamomile (*Matricaria recutita*). *Journal of Functional Foods*, 16, 114-124. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.033>.
- Cardinali, F.; Taccari, M.; Milanović, V.; Osimani, A.; Polverigiani, S.; Garofalo, C.; Foligni, R; Mozzon, M.; Zitti, S.; Raffaelli, N.; Clementi, F.; Aquilanti, L. (2016).** Yeast and mould dynamics in *Caciofiore della Sibilla* cheese coagulated with an aqueous extract of *Carlina acanthifolia* All. *Yeast*, 33 (8), 403-414. <https://doi.org/10.1002/yea.3168>.
- Carocho, M.; Barreira, J. C.M.; Amilcar, A. L.; Albino, B.; Morales P.; Ferreira, I. C.F.R. (2015).** The incorporation of plant materials in “Serra da Estrela” cheese improves antioxidant activity without changing the fatty acid profile and visual appearance. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 33 (8), 403-414. <https://bibliotecadigital.ipb.pt/handle/10198/12467>.
- Carolino, N.; Sousa, C. B.; Carolino, I.; Santos-Silva, F.; Oliveira S. C; Vicente, A. A; Ginja, C.; Gama, L. (2017).** Biodiversidade caprina em Portugal. *Biodiversidad caprina iberoamericana*, 57-75. <https://repositorio.ipsantarem.pt/handle/10400.15/1737>.
- Carrilha, F.; Guiné, R. (2010).** Avaliação da cor de peras secadas por diferentes métodos. Livro de Resumos e CD-Rom das Actas do 1º Encontro Português de Secagem de Alimentos, 9, Viseu. <http://hdl.handle.net/10400.19/1356>.
- Chandan, R.C.; Attaie, R.; Sahani, K.M. (1992).** Nutritional aspects of goat milk and its products. *Proceedings of 5th Internacional Conference on Goats*, 2 (2), 399-420.
- Cobucci, R. M. A. (2010).** Análise Sensorial: Apostila do Curso. Curso Tecnológico Superior em Gastronomia. Pontifica Universidade Católica de Goiás.
- Coiffard, L. (1991).** Aperçu historique sur l'utilisation médicinale et alimentaire du crithme maritime. *Revue d'Histoire de la Pharmacie*, 290, 313-317. DOI:10.3406/pharm.1991.3192.
- Corrêa, F., Corrêa, P.; Abreu, L. (2016).** Determinação do extrato seco de leite fermentado, leite UHT e creme de leite: avaliação de uma metodologia simplificada. *Revista Eletrônica de Extensão*, 13 (24), 83-93, <https://doi.org/10.5007/1807-0221.2016v13n24p83>.
- Crepaldi, L. (2006).** A influência das cores na decisão de compras: um estudo do comportamento do consumidor no ABC Paulista. XXIX Congresso brasileiro de ciências da comunicação. Anais Brasília. Acedido em 18/04/2021 em: <http://www.portcom.intercom.org.br/pdfs/101507895620222080633703116993941865065.pdf>.

- Danner, M. A.; Citadin I.; Junior, A. A. F; Assmann, A. P.; Mazaro, S. M.; Donazzalo, J.; Sasso, A. Z. S. (2006).** Enraizamento de jabuticabeira (*Plinia trunciflora*) por mergulhia aérea. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28 (3), 530-532. <https://doi.org/10.1590/S0100-2945200600030004>.
- De Oliveira, T.M.; de Fátima, N.F.S.; Pereira, R. M.; Fraga, K. (2007).** Development and evaluation of antimicrobial natamycin-incorporated film in Gorgonzola cheese conservation. *Packaging Technology and Science*, 20(2), 147-153. DOI:[10.1002/pts.756](https://doi.org/10.1002/pts.756).
- De Rancourt, M.; Fois, N.; Lavín, M.P.; Tchakérian, E.; Vallerand, F. (2005).** Mediterranean sheep and goats production: An uncertain future. *Small Ruminant Research*, 62 (3), 167-179. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.08.012>.
- Dias, B. J. D. (2020).** Estudo da qualidade microbiológica de produtos de charcutaria – Dissertação para obtenção de Grau de Mestre em Engenharia Alimentar - Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa, Porto. <https://repositorio.ucp.pt/handle/10400.14/32882>.
- Dias, N. A. D.; Lara, S.B.; Miranda, L. S.; Pires, I. S. C.; Pires, C. V.; Halboth, N. V. (2012).** Influence of color on acceptance and identification of flavor of foods by adults. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 32 (4), 747-753. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000059>.
- Díaz-Castro, J.; Pérez-Sánchez, L.; Ramírez López-Frías, M.; López-Aliaga, I.; Nestares, T., Alférez, M.; Campos, M. (2012).** Influence of cow or goat milk consumption on antioxidant defence and lipid peroxidation during chronic iron repletion. *British Journal of Nutrition*, 108 (1), 1-8. Doi: 10.1017/S0007114511005204.
- Direção Geral de Desenvolvimento Rural (2001).** Produtos Tradicionais Portugueses, Queijos e Outros Produtos Lácteos p 248-249 Volume III, Lisboa.
- Downes, F. P.; Ito, K. (2001).** Compendium of methods for the microbiological examination of foods. (4th ed.). Washington: American Public Health Association.
- DRAALG. (2005).** Fabrico de queijo de cabra no Algarve - projeto Agro 281: “Obtenção e valorização do queijo curado de cabra no Algarve”. Algarve – Portugal: DRAALG. Acedido em 12/02/2021 em: [http://www.esac.pt/noronha/manuais/CBP\\_Queijo\\_cabra\\_Algarve\\_DRAAlg.pdf](http://www.esac.pt/noronha/manuais/CBP_Queijo_cabra_Algarve_DRAAlg.pdf).
- Drago, V. S. L. (2019).** Implementação de um Sistema de Gestão da Segurança Alimentar (SGSA) numa Associação de Criadores de Gado Caprino: Produção de queijo fresco e iogurte. Dissertação para obtenção de grau de Mestre em Tecnologia de Alimentos. Universidade do Algarve, Faro. Acedido em 14/08/2021 em: <https://sapientia.ualg.pt/handle/10400.1/12842>.
- Dupas, C.; Metoyer, B.; Hatmi, H. E.; Adt, I.; Mahgou, S. A.; Dumas, E. (2020).** Review Plants: A natural solution to enhance raw milk cheese preservation? *Food*

*Research International*, 130, 108883.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108883>.

**Duque da Fonseca, P. (1988).** Contributo para a avaliação das raças caprinas portuguesas nos seus sistemas de produção. Dissertação de Mestrado. Universidade Técnica de Lisboa. Escola Superior de Medicina Veterinária.

**Egan, H.; Kirk, R. S.; Sawyer, R.; Pearson, D. (1981).** Pearson's chemical analysis of foods. Edinburgh: Churchill Livingstone.

**Everett, D. W.; Auty, M. A. E. (2008).** Cheese structure and current methods of analysis. *International Dairy Journal*, 18 (7), 759-773.  
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2008.03.012>.

**Faria, A.D.A. (2016).** Otimização, melhoramento e flexibilização da queijaria da Avelada. Dissertação para obtenção de grau de mestre. Universidade do Minho, Escola de Engenharia, Portugal. <http://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/47400>.

**FDA. (2009).** Factors that influence microbial growth: Evaluation and definition of potentially hazardous foods. Food and Drug Administration. Acedido em 28/05/2021 em: <https://www.fda.gov/files/food/published/Evaluation-and-Definition-of-Potentially-Hazardous-Foods.pdf>.

**FDA. (2019).** *Escherichia coli* (*E. coli*). Acedido em 05/09/2021: <https://www.fda.gov/food/foodborne-pathogens/escherichia-coli-e-coli>.

**Fernandes, D. L. (2013).** Composição química e propriedades organoléticas do leite de cabra de raça Charnequeira. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Alimentar – Processamento de Alimentos, Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa. Acedido em 12/05/2021 em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/5675/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Duarte%20Fernandes.pdf>.

**Ferreira, V. L. P.; Almeida, T. C. A. de; Pettinelli, M. L. C. de V.; Silva, M. A. A. P. da; Chaves, J. B. P.; Barbosa, E. M. de M. (2000).** Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos. *Seminário de Pesquisa e Inovação Tecnológica*, 1 (1), 127. <http://periodicos.iftm.edu.br/index.php/sepit/article/view/324>.

**Fife, R. L.; McMahon, D. J.; Oberg, C. J. (1996).** Functionality of low fat mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 79 (11), 1903-1910.  
[https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76559-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76559-1).

**Fonseca, A.P.D. (2015).** Avaliação Da Raça Serpentina Nos Seus Sistemas De Produção; Tese apresentada para obtenção do Grau de Doutor em Ciências Agrárias Especialidade: Ciência Animal; Évora. <https://1library.co/document/y9dxo9rq-avaliacao-da-raca-serpentina-nos-seus-sistemas-producao.html>.

- Forsythe, S.J. (2002).** Microbiologia da Segurança Alimentar (2ª edição) Porto Alegre, RS. Editora: ArtMed.  
[https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5698538/mod\\_resource/content/1/Microbiologia%20da%20Seguranca%20dos%20Alimentos%20-%20Stephen%20J.pdf](https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/5698538/mod_resource/content/1/Microbiologia%20da%20Seguranca%20dos%20Alimentos%20-%20Stephen%20J.pdf)
- Fox, P. F.; McSweeney, P. L. H.; Cogan, T. M.; Guinee, T. P. (2004).** Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology (3ª Edição). Burlington: Elsevier Academic Press.
- Fox, P.; McSweeney, P. (1998).** Dairy Chemistry and Biochemistry (1ª edição). London, UK: Blackie Academic e Professional.
- Fox, P.; McSweeney, P.; Cogan, T.; Guinee, T. (2000).** Fundamentals of Cheese Science (1ª edição), USA: Aspen Publishers.
- Fox, P.F. ; Uniacke-Lowe, T.; McSweeney, P.L.H.; O'Mahony, J.A. (2015)** Dairy Chemistry and Biochemistry (2ª edição). Cham: Springer.
- Fuquay, J.; Fox, P.; McSweeney, P. (2011).** Encyclopedia of Dairy Sciences (2ª edição). United Kingdom: Elsevier, Academic Press.
- Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral (2015)** – Informação de Mercados. Disponível em:  
[https://www.gpp.pt/images/GPP/O\\_que\\_disponibilizamos/Publicacoes/Periodicos/Brochura\\_Animal\\_2015.pdf](https://www.gpp.pt/images/GPP/O_que_disponibilizamos/Publicacoes/Periodicos/Brochura_Animal_2015.pdf).
- Garcia, J. K. S.; Prates, R. P.; Farias, P. K. S.; Gonçalves, S. F.; Souza, C. N. de. (2016).** Qualidade microbiológica de queijos frescos artesanais comercializados na região do norte de Minas Gerais. *Caderno De Ciências Agrárias*, 8 (2), 58-65. ISSN 2447-6218.
- Ginzinger W.; Jaros D.; Lavanchy P.; Rohm H. (1999).** Raw milk flora affects composition and quality of Bergkäse. 3. Physical and sensory properties, and conclusions. *Le Lait, INRA Editions*, 79 (4), 411-421. hal-00929661.
- Gonçalves, F. A. F.; Graça, S. M. E. (1985).** Tabela de Composição dos Alimentos Portugueses (2.ª Edição). Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, Lisboa. Acedido em 15/02/2021 em:  
<http://www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/Paginas/TabelaAlimentos.aspx>.
- Gomes L.C.; Souza R. (2012).** Produção de leite de cabra: oportunidades de negócio e qualidade do leite. *Revista mais leite*, 16, 36-40.
- Granato, D.; Masson, M. L. (2010).** Instrumental color and sensory acceptance of soy-based emulsions: a response surface approach. *Food Science and Technology*, 30 (4), 1090-1096. DOI:[10.1590/S0101-20612010000400039](https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000400039).



- Guerra, I.C.D.; Oliveira, C.E.V.; Maia, J.M.; Lima, F.A.; Queiroga, R.C. R.E.; Oliveira, M.E.G.; Barbosa, J.G.; Fernandes, M.F.; Souza, E.D.; Filho, E.C.P.; Neto, S.G. (2008).** Análise comparativa da composição centesimal de leite bovino, caprino e ovino. *Encontro de iniciação à docência, 10, UFPB, João Pessoa. Anais eletrônicos.* <http://www.prac.ufpb.br/anais/IXEnex/iniciacao/documentos/anais/6.SAUDE/6C/CSDNMT10.pdf>.
- Guterres, P. C. M. (2013).** Caracterização do Queijo de Mistura com Adição de Orégãos Dissertação para obtenção de grau de Mestre em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar. Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo. [https://repositorio.ipcb.pt/bitstream/10400.11/2556/1/TM\\_PAU\\_GUTERRES.pdf](https://repositorio.ipcb.pt/bitstream/10400.11/2556/1/TM_PAU_GUTERRES.pdf)
- Haenlein, G.F.W. (2004).** Goat milk in human nutrition. *Small Ruminant Research*, 51(2): 155-63. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.08.010>.
- Halliwel B.; Aeschbach R.; Löliger J.; Aruoma O.I. (1995).** The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 33(7), 601-617. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(95\)00024-V](https://doi.org/10.1016/0278-6915(95)00024-V).
- Hatziminaoglou Y.; Boyazoglu, J. (2004).** The goat in ancient civilisations: from the fertile crescent to the Aegean Sea. *Small Ruminant Research*, 51 (2), 123-129. DOI: [10.1016/j.smallrumres.2003.08.006](https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.08.006) .
- Herrera, A.G. (2001).** Mesophilic Aerobic Microorganisms. *Food Microbiology Protocols*, 14. <https://doi.org/10.1385/1-59259-029-2:25>.
- Hinson, J. (2015).** Goat. London, UK: Reaktion Books Ltd.
- IDF. (2013)** *Listeria monocytogenes* – relevance to dairy products. International Dairy Federation Acedido em 04/07/2021: <https://www.fil-idf.org/wp-content/uploads/2016/04/Factsheet-SCMH-ListeriaMonocytogenes.pdf>.
- IESE. (2015).** Estudo de Diagnóstico e Estratégia 2014-2020: Territórios de Baixa Comissão de Coordenação e Desenvolvimento Regional do Algarve, - Instituto de Estudos Sociais e Económicos. Faro Densidade – Portugal.
- INE. (2019).** Estatísticas Agrícolas:2018 Lisboa: Instituto Nacional de Estatística. Acedido em 12/06/2021 em: <https://www.ine.pt/xurl/pub/358629204>.
- INE. (2020a).** Efetivo caprino anual por Localização geográfica e Categoria. Acedido em 03-09-2021 em: [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INEexpgid=ine\\_indicadoreseindOcorrCod=0000546exlang=ptecontexto=bdeselTab=tab2](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INEexpgid=ine_indicadoreseindOcorrCod=0000546exlang=ptecontexto=bdeselTab=tab2).
- INE. (2020b).** Produção anual de leite de cabra. Acedido em 03-09-2021 em: [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INEexpgid=ine\\_indicadoreseindOcorrCod=0000919exlang=ptecontexto=bdeselTab=tab2](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INEexpgid=ine_indicadoreseindOcorrCod=0000919exlang=ptecontexto=bdeselTab=tab2).
- INE. (2020c).** Produção anual de queijo de cabra. Acedido em 03-09-2021 em: [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INEexpgid=ine\\_indicadoreseindOcorrCod=0000919exlang=ptecontexto=bdeselTab=tab2](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INEexpgid=ine_indicadoreseindOcorrCod=0000919exlang=ptecontexto=bdeselTab=tab2).

- INE. (2020d).** Teor médio de gordura do leite de cabra recolhido em Portugal continental. Acedido em 03-09-2021 em: [https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INEexpgid=ine\\_indicadoreseindOcorrCo d=0008607exlang=ptecontexto=bdeselTab=tab2](https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INEexpgid=ine_indicadoreseindOcorrCo d=0008607exlang=ptecontexto=bdeselTab=tab2)
- ISO 11290-1:2017** Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* Part 1: Detection Method. Genève, Suíça: International Organization for Standardization.
- ISO 11290-2:2017.** Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* Part 2: Enumeration Method. Genève, Suíça: International Organization for Standardization.
- ISO 16649-2:2001.** Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of  $\beta$ -glucuronidase-positive *Escherichia coli* - Part 2: Colonycount technique at 44°C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl  $\beta$ -D-glucuronide. Genève, Suíça: International Organization for Standardization.
- ISO 21527-1:2008** Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0,95. Genève, Suíça: International Organization for Standardization.
- ISO 4833: 2013** Part 1 “Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of microorganisms- Colony-count techniqueat 30 °C”. Genève, Suíça: International Organization for Standardization.
- ISO 5492: 1992.** Sensory analysis — Vocabulary. Glossary of Terms relating to sensory analysis.
- ISO 6888-1:1999/AMD 1:2003** Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium — Amendment 1: Inclusion of precision data. Genève, Suíça: International Organization for Standardization.
- Kongo, J.M.; Malcata, F.X. (2016)** Cheese: Processing and Sensory Properties. *Elsevier Reference Module Food Science - Encyclopedia of Food and Health*, 748-754. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00136-7>.
- Ksouri R.; Ksouri W.M.; Jallali I., Debez A.; Magné C.; Hiroko I., Abdelly C. (2011).** Medicinal halophytes: potent source of health promoting biomolecules with medical: nutraceutical and food applications. *Critical Reviews in Biotechnology*, 32(4), 289-326, DOI: 10.3109/07388551.2011.630647.



- Kubo, M.T.K.; Maus, D.; Xavier, A.A.O.; Mercadante, A.Z.; Viotto, W.H. (2013).** Transference of lutein during cheese making, color stability, and sensory acceptance of Prato cheese. *Ciência e Tecnologia Alimentar*, 33(1), 81-88. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612013000500013>.
- Ledenbach, L. H.; Marshall, R. T. (2009.)** Microbiological spoilage of dairy products. Compendium of the microbiological spoilage of foods and beverages, food microbiology and food safety. Nova Iorque: Springer. [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4419-0826-1\\_2](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4419-0826-1_2).
- Lemay, A.; Paquin, P.; Lacroix, C. (1994).** Influence of microfluidization of milk on cheddar cheese composition, color, texture, and yield. *Journal of Dairy Science*, 77 (10), 2870-2879. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77227-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77227-1).
- Lix, L. M.; Keselman, J. C.; Keselman, H. J. (1996).** Consequences of assumption violations revisited: A quantitative review of alternatives to the one-way analysis of variance F test. *Review of Educational Research*. <https://doi.org/10.3102/00346543066004579>.
- Loforte, Y. (2017).** Desenvolvimento de um Queijo de Cabra Serrana Picante de Pasta Semi-dura: do fabrico à análise sensorial. Dissertação para obtenção de grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar. Escola Superior Agrária de Bragança – Bragança. <http://hdl.handle.net/10198/14776>.
- Lu C.C.; Yen G. C. (2015).** Antioxidative and anti-inflammatory activity of functional foods. *Current Opinion in Food Science*, 2, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2014.11.002>.
- Lucheis, S. B. (2012).** Vigilância para *Staphylococcus aureus* produtores de toxinas em leite. *Pesquisa e Tecnologia*, 9 (1), Jan-Jun. <http://apta regional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2012/janeiro-junho-2/1196-vigilancia-para-staphylococcus-aureus-produtores-de-toxinas-em-leite/file.html>
- Magalhães, A. C. M. (2005).** Obtenção higiênica e parâmetros de qualidade do leite de cabra. Viçosa, MG, 2005. Disponível em: <https://docplayer.com.br/68183066-Obtencao-higienica-e-parametros-de-qualidade-do-leite-de-cabra-amelia-cristina-mendes-de-magalhaes.html> (acedido em 22 de novembro de 2020).
- Magri, P. L. (2015)** Quantificação de Acidez Titulável e pH Utilizando Técnica Potenciométrica como Indicador de Qualidade do Leite Bovino. Dissertação para obtenção de grau de Mestre em Ciência e Tecnologia em Leite e Derivados. Universidade Federal de Juiz de Fora. <https://repositorio.ufjf.br/jspui/bitstream/ufjf/1452/1/luizpaulomagri.pdf>
- Mahieddine, B.; Feknous, N.; Farah, M.; Dalichaouche, N.; Ines, F.; Lynda, T. (2017).** Caractérisation du lait de chèvre produit dans la region du Nord-Est Algérien: essai de fabrication du fromage frais. *Algerian Journal of Natural Products*, 5(2), 492-506. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1098265>

- Marchiani, R.; Bertolino, M.; Ghirardello, D.; McSweeney, P. L. H.; Zeppa, G. (2016)** Physicochemical and nutritional qualities of grape pomace powder-fortified semi-hard cheeses. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 1585–1596. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2105-8>
- Marôco, J. (2010).** Análise estatística com utilização do SPSS. Lisboa: Edições Sílabo.
- Meot-Duros, L.; Magné, C. (2009).** Antioxidant activity and phenol content of *Crithmum maritimum* L. leaves. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47 (1), 37-41. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.09.006>.
- Mukdsi, A., Claudia, M., Haro A. C., Gonzalez, S. N., Medina, R. B. (2013).** Functional goat milk cheese with feruloyl esterase activity. *Journal of Functional Foods*, 5 (2), 801-809. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.01.026>.
- Nollet, L.; Toldrá, F. (2010).** Handbook of Dairy Foods Analysis. CRC Press, USA.
- NP 1598 (1983).** Queijo. Definição, classificação, acondicionamento e marcação. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- NP 1921 (1985).** Queijo fresco tradicional Definição, características, classificação e marcação. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- NP 3544 (1987).** Queijos e queijos fundidos. Determinação do resíduo seco e do resíduo seco isento de matéria gorda. Instituto Português da Qualidade. Lisboa.
- Oliveira, M.; João Rodrigues, M.; Neng, N.R.; Nogueira, J.M.F.; Bessa, R.J.B.; Custódio, L. (2021).** Seasonal Variations of the Nutritive Value and Phytotherapeutic Potential of *Cladium mariscus* L. (Pohl.) Targeting Ruminant's Production. *Plants* 10(3), 556. <https://doi.org/10.3390/plants10030556>.
- OMS; FAO. (2009).** Producción de alimentos de origen animal. (*C. alimentarius*, Ed.) Obtido de FAO. Acedido em 13/02/2021 em: <http://www.fao.org/3/i1111s/i1111s.pdf>
- Paolo, F.; Andrea, S.; Piero, F.; Massimo, M.; Primo, M. (2008).** Cheese yield: Factors of variation and predictive formulas. A review focused particularly on grana type cheeses. *Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Parma*, 28, 211-232.
- Park, Y.W. (2006).** Minor species milk. Blackwell Publishing Professional, Oxford, UK/Ames, Iowa.
- Park, Y.W.; Juarez, M.; Ramos; M., (2007).** Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68 (1-2), 88-113. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.09.013>.
- Paula, J. C. J.; Carvalho, A. F.; Furtado, M. M. (2013).** Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*. 367/368 (64), 19-25. <https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/76>.

- Paulson, B. M.; McMahon, D. J.; Oberg, C. J. (1998).** Influence of sodium chloride on appearance, functionality, and protein arrangement in nonfat mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 81 (8), 2053-2064. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(98\)75780-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(98)75780-7).
- Paz, R.G., Togo, J.A.; Lopez, C. (2007).** Evaluación de parámetros de producción de leche en caprinos - Santiago del Estero, Argentina. *Revista Científica de Maracaíbo*, 17 (2), 161-165. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-22592007000200009](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592007000200009).
- Pedrosa, I. (2003).** Da cor à cor inexistente (9ª edição). Rio de Janeiro: Léo Christiano Editorial.
- Penas, A.F.M. (2018).** Efeito da formulação e da conservação nas propriedades de extratos de flor de cardo para fabrico de queijo. Dissertação para obtenção de grau de Mestre em Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa. <http://hdl.handle.net/10400.5/17841>.
- Pereira C. G.; Barreira L.; Bijttebier S.; Pieters L.; Neves V.; Rodrigues M.J.; Rivas R., Varela J.; Custódio L., (2017).** Chemical profiling of infusions and decoctions of *Helichrysum italicum* subsp. *picardii* by UHPLC-PDA-MS and in vitro biological activities comparatively with green tea (*Camellia sinensis*) and rooibos tisane (*Aspalathus linearis*). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 145, 593-603. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.07.007>.
- Pereira C. G.; Barreira L.; Neng, N. R.; Nogueira J. M. F.; Marques C.; Santos T. F.; Varela J.; Custódio L., (2017).** Searching for new sources of innovative products for the food industry within halophyte aromatic plants: *In vitro* antioxidant activity and phenolic and mineral contents of infusions and decoctions of *Crithmum maritimum* L., *Food and Chemical Toxicology*, 107 (parte B), 581-589. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.04.018>.
- Perry, K. S. P. (2004).** Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. *Química Nova*, 27 (2), 293-300. <https://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422004000200020>.
- PHAC (2011).** Pathogen Safety Data Sheets: Infectious Substances – *Escherichia coli*, enterotoxigenic. Public Health Agency of Canada. Acedido em 05/09/2021: Disponível em: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment/escherichia-coli-enterotoxigenic.html>
- Pieniz, S.; Andrezza R.; Okeke B. C. ; Camargo, F. A. O. ; Brandelli A. (2015).** Antimicrobial and antioxidant activities of *Enterococcus* species isolated from meat and dairy products. *Brazilian Journal of Biology*, 75 (4), 923-931. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.02814>.

- Pinho, O.; Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2006).** Queijo, um alimento para todas as idades. Entre o queijo tradicional e os novos alimentos funcionais. Artigo de opinião: ANIL LEITE + I + D + T, 1, 10 – 11.
- Pintado, C. M. B. S.; Grant, K. A.; Halford-Maw, R.; Hampton, M.D.; Ferreira, M. A. S. S.; McLauchlin, J. (2009).** Association between a case study of asymptomatic ovine listerial mastitis and the contamination of soft cheese and cheese processing environment with *Listeria monocytogenes* in Portugal. *Foodborne Pathogens and Disease*, 6(5), 569-75. doi: 10.1089/fpd.2008.0246.
- Pires, A.; Sobral, P.; Gomes, A.; Pardal, P. (2015).** Qualidade higiénica do leite de caprinos da raça serrana, ecótipo ribatejano, explorados na região do Ribatejo e Oeste. *Revista da Unidade de Investigação do Instituto Politécnico de Santarém*, 3 (4), <https://doi.org/10.25746/ruiips.v3.i4.14375>.
- Portaria 73/90.** Diário da República n.º 27/1990, Série I de 1990-02-01. Estabelece disposições sobre as características, classificação, acondicionamento, rotulagem e condições de conservação do queijo.
- Potes, M.E.; Pinheiro, C.M.; Babo, H; Cavaco, N.; Cachatra, A.; Fialho, J. (2005).** Qualidade Higio-sanitária e química do leite e queijo da cabra Serpentina. 3º congresso da SPCV. Livro de Resumos. Página 55. <https://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/10174/6190/2/QUALIDADE%20HSQ%20LEITE%20E%20QUEIJO%20CABRA%20SERPENTINA.pdf>.
- Presente, J.; de Fraga, H.; Schmidt, C. (2016).** Aceitação E Conservação De Queijos Frescos Elaborados Com Óleos Essenciais. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 71(3), 153-165. doi: <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v71i3.531>.
- Queiroga R. C. R. E.; Santos B. M.V; Gomes A. M. P.; Monteiro M.J.; Teixeira S. M.; Souza E. L.; Pereira C. J. D.; Pintado, M. M. E. (2013).** Nutritional, textural and sensory properties of Coalho cheese made of goats', cows' milk and their mixture. *LWT -Food Science and Technology*, 50 (2), 538-544. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.011>.
- Raimundo, A.; Cabrita, A.; Laranjeira, C.; Oliveira, A.; Dias, I.; Cristina, J. (2015).** Efeitos do tipo de salga no valor do pH, na concentração de sal e no rendimento de um queijo de cabra curado. *Revista da Unidade de Investigação do Instituto Politécnico de Santarém*, 3 (4). <https://doi.org/10.25746/ruiips.v3.i4.14367>.
- Regulamento (CE) n. o 1662/2006 da Comissão, de 6 de Novembro de 2006,** que altera o Regulamento (CE) n. o 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal (Texto relevante para efeitos do EEE). Acedido em 16 de junho de 2021 em: [http://www.esac.pt/noronha/legislalimentar/Regulamento\\_1662\\_2006.pdf](http://www.esac.pt/noronha/legislalimentar/Regulamento_1662_2006.pdf).

- Regulamento (CE) n. o 2073/2005 da Comissão de 15 de Novembro de 2005** relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios (Texto relevante para efeitos do EEE) Acedido em 29/01/2021 em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:02005R2073-20190228efrom=SV>.
- Regulamento (CE) n.º 1441/2007 da Comissão, de 5 de Dezembro de 2007**, que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios (Texto relevante para efeitos do EEE ). Acedido em 20/02/2021 em: <https://eurlex.europa.eu/legalcontent/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32007R1441efrom=EN>.
- Regulamento (CE) n.o 1333/2008 do Parlamento europeu e do Conselho de 16 de Dezembro de 2008** relativo aos aditivos alimentares. Acedido em 16 de junho de 2021:<https://eurlex.europa.eu/legalcontent/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1333efrom=ES>.
- Regulamento (CE) n.o 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril de 2004** que estabelece regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal. Acedido em 16 de junho de 2021: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2004:226:0022:0082:PT:PDF>.
- Ribeiro, J. N. (2008)**. Segurança alimentar no leite à entrada da fábrica - Controlo integrado dos produtores com a indústria. *Segurança e Qualidade Alimentar*. Acedido em 15/04/2021 em: <http://www.infoqualidade.net/SEQUALI/PDF-SEQUALI-04/SEQUALI-04.pdf>.
- Rodrigues, M. J.; Monteiro, I.; Castañeda-Loaiza, V.; Placines, C.; Oliveira, M.C.; Reis, C.; Caperta, A. C.; Soares, F.; Pousão-Ferreira, P.; Pereira, C.; Custódio, L. (2020)**. Growth performance, *in vitro* antioxidant properties and chemical composition of the halophyte *Limonium algarvense* Erben are strongly influenced by the irrigation salinity, *Industrial Crops and Products*, 143, 111930. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111930>.
- Rohm, H.; Jaros, D. (1997)**. Colour of hard cheese 2. Factors of influence and relation to compositional parameters. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 204, 259–264. <https://doi.org/10.1007/s002170050074>
- Roque, J.L. (2014)**. Produção em cabras: comparação de sistemas e incidência de patologia. Relatório de Estágio Profissionalizante para obtenção do Grau de Mestre em Agro-Pecuária. Politécnico de Coimbra - Escola Superior Agrária, Coimbra, Portugal. [https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/17003/1/Relat%C3%B3rio\\_final.pdf](https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/17003/1/Relat%C3%B3rio_final.pdf).
- Sandi, A. L. S. (2004)**. Comportamento do *Staphylococcus aureus* em queijo minas frescal fabricado com leite cru. Dissertação para obtenção de grau de Mestre em Ciências dos Alimentos). Universidade Federal de Lavras.

[http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/35851/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O\\_Co\\_mportamento%20do%20Staphylococcus%20aureus%20em%20queijo%20minas%20frescal%20fabricado%20com%20leite%20cru.pdf](http://repositorio.ufla.br/bitstream/1/35851/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Co_mportamento%20do%20Staphylococcus%20aureus%20em%20queijo%20minas%20frescal%20fabricado%20com%20leite%20cru.pdf)

- Sangatelli, N. (2007).** Estudo da vida útil do queijo mina frescal disponível no mercado. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Tecnologia dos Alimentos. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo. <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/11/11141/tde-19102007-100720/pt-br.php>
- Santana, E. H. W.; Beloti, V.; Aragon-alegro, L. C. ; Mendonça, M. B. O. C. (2010).** Estafilococos em alimentos. *Arquivos do Instituto Biológico*, 77 (3), Jul-Sep. <https://doi.org/10.1590/1808-1657v77p5452010>.
- Santo, E.F. do E.; Lima, L.K.F. de; Torres, A.P.C.; Oliveira, G. de; Ponsano, E.H.G. (2013).** Comparison between freeze and spray drying to obtain powder *Rubrivivax gelatinosus* biomass. *Food Science and Technology*, 33 (1), 47-51. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612013005000008>.
- Santos, E. V. A. C. (2015).** Qualidade microbiológica e físico: química de queijo fresco de leite de cabra produzido em Cabo Verde. Dissertação para obtenção de grau de Mestre em Segurança Alimentar. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. <https://estudogeral.sib.uc.pt/handle/10316/30369>.
- Silva, A. A.; Adrião, M.; Juminez, G. C. (2007).** Estudo do polimorfismo genético da s1-caseína em cabra, no estado de Pernambuco. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 29 (3), 255-259. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v29i3.551>.
- Siracusa, L.; Kulisic-Bilusic, T.; Politeo, O.; Krause, I.; Dejanovic, B.; Ruberto, G. (2011).** Phenolic composition and antioxidant activity of aqueous infusions from *Capparis spinosa* L. and *Crithmum maritimum* L. before and after submission to a two-step in vitro digestion model. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(23), 12453–12459. <https://doi.org/10.1021/jf203096q>.
- Slačanac, V.; Božanić, R.; Hardi, J.; Rezessyné Szabó, J.; Lučan, M.; Krstanović, V. (2010)** Nutritional and therapeutic value of fermented caprine milk. *International Journal of Dairy Technology*, 63(2) ,171-189. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00575.x>.
- Sobral, P.; Bernardes, M. E.; Pardal, P. (2014).** Caraterização das explorações de caprinos da raça serrana, ecótipo ribatejano, na região do Ribatejo. *Revista da Unidade de Investigação do Instituto Politécnico de Santarém*, 4 (2): 55-81. <https://core.ac.uk/download/pdf/70620036.pdf>.
- Sousa, A.Z.B.; Abrantes, M.R.; Sakamoto, S.M.; Silva, J.B.A.; Lima, P.O.; Lima, R.N.; Rocha, M.O.C.; Passos, Y.D.B. (2014).** Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo coalho comercializados em estados do nordeste do Brasil.



*Arquivos do Instituto Biológico*, 81 (1), 30-35. <https://doi.org/10.1590/S1808-16572014000100006>.

**SPREGA. (2020).** Caprinos - Raça Algarvia. Acedido em 24-02-2021. Disponível em: <https://www.sprega.com.pt/conteudo.php?idesp=caprinoseidraca=Algarvia>.

**Tutin, T.G.; Heywood, V.H.; Burges, N.A.; Moore, D.M.; Valentine, D.H.; Walters, S.M.; Webb, D.A. (1976).** *Plantaginaceae to Compositae (and Rubiaceae)*. Cambridge University Press, 4, 505. <https://doi.org/10.5281/zenodo.293764>.

**Valente, R.L. (2013).** Desenvolvimento de novos produtos tendo por base o queijo de ovelha curado: avaliação da sua estabilidade e aceitação pelo consumidor. Dissertação para obtenção de grau de Mestre. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa. <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/5372/1/Desenvolvimento%20de%20novos%20produtos%20tendo%20por%20base%20o%20queijo%20de%20ovelha%20curado.pdf>.

**Valko, M.; Leibfritz, D.; Moncol, J.; Cronin, M.T.; Mazur, M.; Telser, J. (2006).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1):44-84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001.

**Veiga, S.N.T. (2012).** Qualidade microbiológica e físico-química de queijos comercializados em Portugal. Dissertação para obtenção de grau de Mestre. Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa. Acedido em 12/04/2021 em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/4844/1/Qualidade%20microbiologica%20e%20fisicoquimica%20de%20queijos%20comercializados%20em%20Portugal.pdf>.

**Verruck, A. D. S.; Prudencio, E. S. (2018).** Functionality of the components from goat's milk, recent advances for functional dairy products development and its implications on human health. *Journal of Functional Foods*, 52, 243-257. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.11.017>.

**Viegas, D.A.; Palmeira Oliveira, A.; Salgueiro, L.; Martinez Oliveira, J.; Palmeira Oliveira, R. (2014).** *Helichrysum italicum*: From traditional use to scientific data. *Journal of Ethnopharmacology*, 151 (1), 54-65. DOI: 10.1016/j.jep.2013.11.005.

**Vieira, L. M. (2015).** Estudo de viabilidade económica de uma exploração de caprinos de leite. Dissertação para obtenção do grau de Mestre. Instituto Politécnico de Castelo Branco - Escola Superior Agrária. [https://repositorio.ipcb.pt/bitstream/10400.11/2798/1/TM\\_LUIS\\_VIEIRA.pdf](https://repositorio.ipcb.pt/bitstream/10400.11/2798/1/TM_LUIS_VIEIRA.pdf).

- Vieira, M. I. (1986)** Criação de cabras-técnica pratica lucrativa. (3ª edição) São Paulo : Nobel.
- Wang, D.; Wang, L.J. ; Zhu, F.X. ; Zhu, J.Y. ; Chen, X.D ; Zou, L.; Saito, M.; Li, L. (2008).** *In vitro* and *in vivo* studies on the antioxidant activities of the aqueous extracts of Douchi (a traditional Chinese salt-fermented soybean food). *Food Chemistry*, 107 (4), 1421-1428. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.072>.
- Yamanaka, E. H. U.; Cogo, L. L.; Dalzoto, P. R.; Pimentel, I. C. (2016).** Qualidade microbiológica de queijos e salames artesanais brasileiros. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 75 (1691), 1-9. <https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2016/ses-34464/ses-34464-6381.pdf>.
- Zeder, M. A.; Hesse, B. (2000).** The initial domestication of goats (*Capra hircus*) in the Zagros mountains 10,000 years ago. *Science*, 287 (5461), 2254-2257. <https://doi.org/10.1126/science.287.5461.2254>.



## Anexos

### Anexo A - Lote 4 – Variável dependente L

Tabela A.1. Resumo do processamento de casos

	Tempo	Casos				
		N	Válido Porcentagem	N	Omisso Porcentagem	Total N
L-controlo	t=0	15	71,4%	6	28,6%	21
	t=7	15	71,4%	6	28,6%	21
	t=14	15	71,4%	6	28,6%	21

#### Resumo de processamento de casos

	Tempo	Casos	
		Total	Porcentagem
L-controlo	t=0	15	100,0%
	t=7	15	100,0%
	t=14	15	100,0%

Tabela A.2. Testes de normalidade

	Tempo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estatística	gl	Sig.	Estatística	gl	Sig.
L-controlo	t=0	,184	15	,182	,894	15	,078
	t=7	,235	15	,025	,832	15	,010
	t=14	,249	15	,013	,904	15	,110

a. Correlação de Significância de Lilliefors

Tabela A.3. Estatísticas descritivas

Tempo				Estatística	Estatística do teste Padrão		
L-controlo	t=0	Média		80,1933	,09018		
		95% de Intervalo de Confiança para Média		Limite inferior	79,9999		
				Limite superior	80,3868		
		5% da média aparada		80,1926			
		Mediana		80,3100			
		Variância		,122			
		Erro Padrão		,34928			
		Mínimo		79,71			
		Máximo		80,69			
		Amplitude		,98			
		Amplitude interquartil		,68			
		Assimetria		-,059	,580		
		Curtose		-1,573	1,121		
			t=7	Média		76,4607	,02838
				95% de Intervalo de Confiança para Média		Limite inferior	76,3998
Limite superior	76,5215						
5% da média aparada				76,4602			
Mediana				76,4200			
Variância				,012			
Erro Padrão				,10990			
Mínimo		76,32					
Máximo		76,61					
Amplitude		,29					
Amplitude interquartil		,22					
Assimetria		,314	,580				
Curtose		-1,842	1,121				
	t=14	Média		76,4113	,04809		
		95% de Intervalo de Confiança para Média		Limite inferior	76,3082		
				Limite superior	76,5145		
		5% da média aparada		76,4126			
		Mediana		76,4600			
		Variância		,035			
		Erro Padrão		,18624			
		Mínimo		76,05			
		Máximo		76,75			
		Amplitude		,70			
		Amplitude interquartil		,19			
		Assimetria		-,639	,580		
		Curtose		,531	1,121		

## Outliers

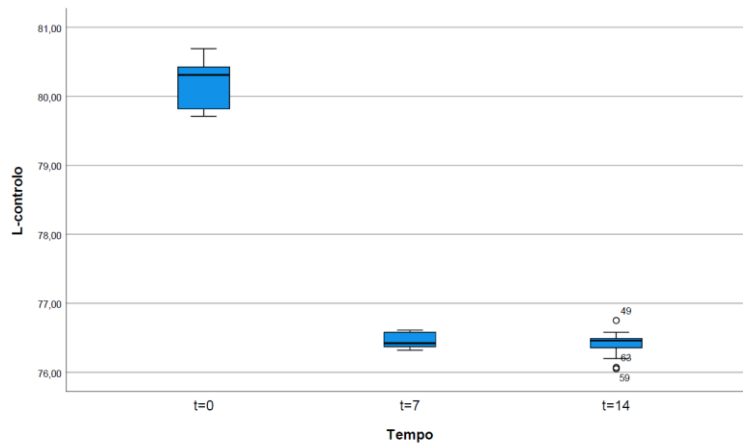


Tabela A.4. Testes de homogeneidade de variâncias

		Estadística de Levene	df1	df2	Sig.
L-controlo	Com base em média	13,663	2	42	,000
	Com base em mediana	7,345	2	42	,002
	Com base em mediana e com gl ajustado	7,345	2	27,735	,003
	Com base em média aparada	13,696	2	42	,000

Tabela A.5. Testes de ANOVA

L-controlo					
	Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	Z	Sig.
Entre Grupos	141,194	2	70,597	1255,003	,000
Nos grupos	2,363	42	,056		
Total	143,556	44			

## Subconjuntos homogêneos

Tabela A.6. Tuckey Test

### Testes Posteriores

#### Comparações múltiplas

Variável dependente: L-controlo

Tukey HSD

(I) Tempo	(J) Tempo	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de Confiança 95%	
					Limite inferior	Limite superior
t=0	t=7	3,73267*	,08660	,000	3,5223	3,9431
	t=14	3,78200*	,08660	,000	3,5716	3,9924
t=7	t=0	-3,73267*	,08660	,000	-3,9431	-3,5223
	t=14	,04933	,08660	,837	-,1611	,2597
t=14	t=0	-3,78200*	,08660	,000	-3,9924	-3,5716
	t=7	-,04933	,08660	,837	-,2597	,1611

\*. A diferença média é significativa no nível 0.05.

#### L-controlo

Tukey HSD<sup>a</sup>

Tempo	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
t=14	15	76,4113	
t=7	15	76,4607	
t=0	15		80,1933
Sig.		,837	1,000

São exibidas as médias para os grupos em subconjuntos homogêneos.

a. Usa o Tamanho da Amostra de Média Harmônica = 15,000.

## Anexo B - Lote 4 – Variável dependente pH

Tabela B.1. Resumo de processamento de casos

	pHTempo	Casos				
		N	Válido Porcentagem	N	Omisso Porcentagem	Total N
pH-controlo	t=0	9	100,0%	0	0,0%	9
	t=7	9	100,0%	0	0,0%	9
	t=14	9	100,0%	0	0,0%	9

### Resumo de processamento de casos

	pHTempo	Casos	
		Total	Porcentagem
pH-controlo	t=0	9	100,0%
	t=7	9	100,0%
	t=14	9	100,0%

Tabela B.2. Testes de Normalidade

	pHTempo	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Estatística	gl	Sig.	Estatística	gl	Sig.
pH-controlo	t=0	,335	9	,004	,748	9	,005
	t=7	,275	9	,049	,886	9	,183
	t=14	,173	9	,200*	,950	9	,692

\*. Este é um limite inferior da significância verdadeira.

a. Correlação de Significância de Lilliefors

Tabela B.3. Estatísticas descritivas.

pHTempo		Estatística		Estatística do teste Padrão	
pH-controlo	t=0	Média	6,4933	,00289	
		95% de Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior		6,4867
			Limite superior		6,5000
		5% da média aparada	6,4937		
		Mediana	6,5000		
		Variância	,000		
		Erro Padrão	,00866		
		Mínimo	6,48		
		Máximo	6,50		
		Amplitude	,02		
		Amplitude interquartil	,01		
		Assimetria	-,825		,717
		Curtose	-1,079		1,400
	t=7	Média	6,5678	,00703	
		95% de Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior		6,5516
			Limite superior		6,5840
		5% da média aparada	6,5686		
		Mediana	6,5800		
		Variância	,000		
		Erro Padrão	,02108		
Mínimo		6,53			
Máximo		6,59			
Amplitude		,06			
Amplitude interquartil	,04				
t=14	95% de Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior	6,4337	,02199	
		Limite superior	6,5352		
	5% da média aparada	6,4855			
	Mediana	6,4900			
	Variância	,004			
	Erro Padrão	,06598			
	Mínimo	6,38			
	Máximo	6,57			
	Amplitude	,19			
	Amplitude interquartil	,12			
	Assimetria	-,251	,717		
	Curtose	-1,119	1,400		

## Outliers

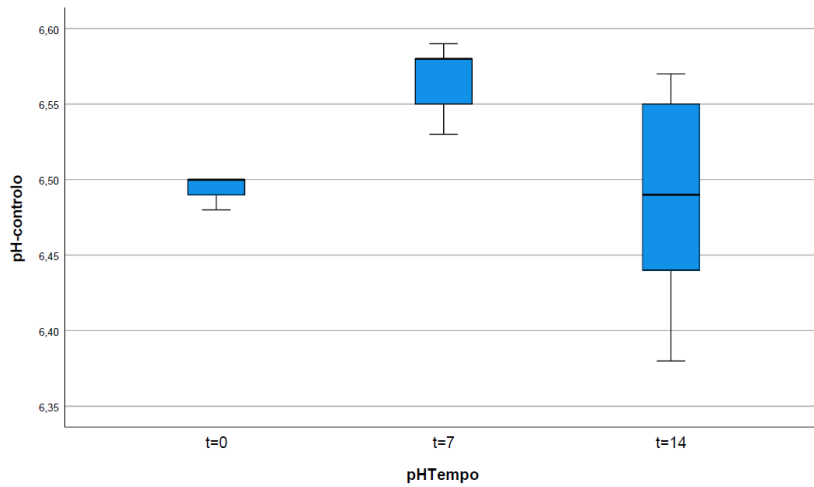


Tabela B.4. Testes de homogeneidade de variâncias

		Estadística de Levene	df1	df2	Sig.
pH-controlo	Com base em média	11,695	2	24	,000
	Com base em mediana	9,134	2	24	,001
	Com base em mediana e com gl ajustado	9,134	2	12,507	,004
	Com base em média aparada	11,481	2	24	,000

Tabela B.5. Testes Robustos de Igualdade de Médias

## ANOVA

pH-controlo					
	Soma dos Quadrados	df	Quadrado Médio	Z	Sig.
Entre Grupos	,038	2	,019	11,605	,000
Nos grupos	,039	24	,002		
Total	,077	26			

pH-controlo

	Estatística <sup>a</sup>	df1	df2	Sig.
Welch	45,919	2	12,321	,000

a. F distribuído assintoticamente.

Subconjuntos homogéneos

Tabela B.6. Teste de Tuckey para pH

Comparações múltiplas

Variável dependente: pH-controlo

Tukey HSD

(I) pHTempo	(J) pHTempo	Diferença média (I-J)	Erro Padrão	Sig.	Intervalo de ... Limite inferior
t=0	t=7	-,07444*	,01900	,002	-,1219
	t=14	,00889	,01900	,887	-,0386
t=7	t=0	,07444*	,01900	,002	,0270
	t=14	,08333*	,01900	,001	,0359
t=14	t=0	-,00889	,01900	,887	-,0563
	t=7	-,08333*	,01900	,001	-,1308

Comparações múltiplas

Variável dependente: pH-controlo

Tukey HSD

(I) pHTempo	(J) pHTempo	Intervalo de ... Limite superior
t=0	t=7	-,0270
	t=14	,0563
t=7	t=0	,1219
	t=14	,1308
t=14	t=0	,0386
	t=7	-,0359

\*. A diferença média é significativa no nível 0.05.



## pH-controlo

Tukey HSD<sup>a</sup>

pHTempo	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
t=14	9	6,4844	
t=0	9	6,4933	
t=7	9		6,5678
Sig.		,887	1,000

São exibidas as médias para os grupos em subconjuntos homogêneos.

a. Usa o Tamanho da Amostra de Média Harmônica = 9,000.

## Anexo C - Lotes 4 e 7 – variável dependente pH

Tabela C.1. Resumo de processamento de casos

	AdiçãoPlanta	Casos				Total N
		N	Válido Porcentagem	N	Omisso Porcentagem	
pH-biomassa-L7	Adição antes	9	100,0%	0	0,0%	9
	Adição depois	7	77,8%	2	22,2%	9

### Resumo de processamento de casos

	AdiçãoPlanta	Casos	
		Total	Porcentagem
pH-biomassa-L7	Adição antes	9	100,0%
	Adição depois	7	100,0%

Tabela C.2. Teste de Normalidade

	AdiçãoPlanta	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk	
		Estatística	gl	Sig.	Estatística	gl
pH-biomassa-L7	Adição antes	,272	9	,054	,805	9
	Adição depois	,286	7	,086	,821	7

### Testes de Normalidade

	AdiçãoPlanta	Shapiro-...	
		Estatística	Sig.
pH-biomassa-L7	Adição antes	,024	
	Adição depois	,066	

a. Correlação de Significância de Lilliefors

### Outliers

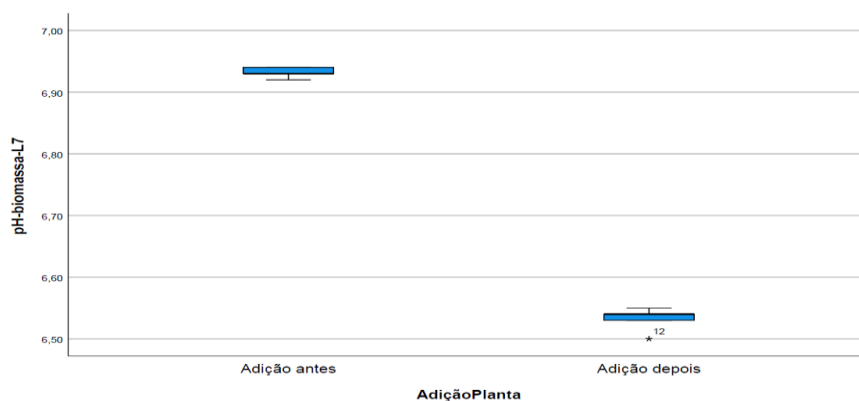


Tabela C.3. Estatísticas descritivas

AdiçãoPlanta		Estatística		
pH-biomassa-L7	Adição antes	Média	6,9333	
		95% de Intervalo de Confiança para Média	Limite inferior	6,9279
			Limite superior	6,9388
		5% da média aparada	6,9337	
		Mediana	6,9300	
		Variância	,000	
		Erro Padrão	,00707	
		Mínimo	6,92	
		Máximo	6,94	
		Amplitude	,02	
		Amplitude interquartil	,01	
		Assimetria	-,606	
		Curtose	-,286	
		Adição depois	Média	6,5329
	95% de Intervalo de Confiança para Média		Limite inferior	6,5180
			Limite superior	6,5477
5% da média aparada	6,5337			
Mediana	6,5400			
Variância	,000			
Erro Padrão	,01604			
Mínimo	6,50			
Máximo	6,55			
Amplitude	,05			
Amplitude interquartil	,01			
Assimetria	-1,663			
Curtose	3,491			

Tabela C.4. Teste da Homogeneidade das Variâncias

Teste-T

Estatísticas de grupo

AdiçãoPlanta	N	Média	Desvio Padrão	Erro de média padrão
pH-biomassa-L7	Adição antes	6,9333	,00707	,00236
	Adição depois	6,5329	,01604	,00606

Teste de amostras independentes

		Teste de Levene para igualdade de variâncias	teste-t para Igualdade de Médias		
		Z	Sig.	t	df
pH-biomassa-L7	Variâncias iguais assumidas	1,842	,196	67,458	14
	Variâncias iguais não assumidas			61,582	7,818

Tabela C.5. Teste T de Student

		teste-t para Igualdade de Médias		
		Sig. (2 extremidades)	Diferença média	Erro de diferença padrão
pH-biomassa-L7	Variâncias iguais assumidas	,000	,40048	,00594
	Variâncias iguais não assumidas	,000	,40048	,00650

**Teste de amostras independentes**

		teste-t para Igualdade de Médias	
		95% Intervalo de Confiança da Diferença	
		Inferior	Superior
pH-biomassa-L7	Variâncias iguais assumidas	,38774	,41321
	Variâncias iguais não assumidas	,38542	,41553