

Mestrado em Gastronomia

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Gastronomia

Utilização de subprodutos da figueira como
coalho vegetal na produção de queijo fresco

Estudante: Fábio José Borges Duarte – nº 4210995

Peniche, setembro de 2023

Mestrado em Gastronomia

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Gastronomia

Utilização de subprodutos da figueira como
coalho vegetal na produção de queijo fresco

Dissertação de Mestrado realizada sob a orientação da Professora
Doutora Susana Maria Pereira Dias e da Professora Doutora Susana
Filipa Jesus Silva

Estudante: Fábio José Borges Duarte – nº 4210995

Peniche, setembro de 2023

Título: Utilização de subprodutos da figueira como coalho vegetal na produção de queijo fresco

Copyright© Fábio José Borges Duarte

Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar

Instituto Politécnico de Leiria

2023

A Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar e o Instituto Politécnico de Leiria têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação/trabalho de projeto/relatório de estágio através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a 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.

*Comer é uma arte para muitos, uma paixão para outros e uma obrigação para quem
não gosta de o fazer*

Fábio J. B. Duarte

Agradecimentos:

Quando se decide avançar com a ideia de frequentar um Mestrado, e com a realização da respetiva tese, é fundamental consciencializarmo-nos de que existe um longo trabalho árduo pela frente, sendo necessária muita dedicação, persistência e empenho, sem nunca “baixar os braços”. Assim sendo,

Gostaria de destacar que esta dissertação foi desenvolvida com o apoio do projeto 100% FIGO – Produto biofuncional e com elevada eficiência de circularidade na transformação e conservação por tecnologias avançadas de extração e incorporação de compostos bioativos,

De seguida, deixo o meu louvável agradecimento para a Doutora Susana Dias (orientadora na ESAC, em Coimbra) e para a Doutora Susana Silva (orientadora na ESTM, em Peniche) por terem aceitado o meu convite para serem as minhas orientadoras de estágio, pela ajuda incansável que foram prestando no decorrer das atividades e das tarefas necessárias, por todo o apoio, oportunidade e tempo investido no meu evoluir e na construção dos meus conhecimentos, pela paciência, generosidade e compreensão que tiveram em solucionar as minhas questões e dificuldades,

Um agradecimento especial aos trabalhadores da OTL (oficina tecnológica dos laticínios), nomeadamente ao Eng. David Gomes, à D. Lurdes e à D. Adélia, por toda a atenção, disponibilidade, empenho, bem como na ajuda de todas as atividades realizadas na OTL e por fornecer o seu valioso contributo na vertente dos laticínios e das análises físico-químicas,

Depois, queria agradecer de coração à Quinta da Mó, nos Açores, que forneceu gentilmente uma quantidade bastante generosa da matéria-prima que foi aplicada em determinadas condições para coagular o leite (neste caso, o extrato da figueira moído),

Aos meus pais, que sempre me apoiaram nas minhas decisões, estiveram lá nos bons e maus momentos da vida, que me ensinaram a ser o que sou hoje,

A uma pessoa muito especial que, embora já tenha partido, foi o impulsionador para eu estar na vertente de desenvolvimento de novos produtos e que me apoiou sempre em todas as minhas decisões profissionais,

E por último, a todos aqueles e aquelas que me apoiaram e não desistiram de mim.

Resumo:

A valorização dos subprodutos da produção agroindustrial constitui, nos dias de hoje, uma importante aposta e ferramenta no sentido da procura da sustentabilidade social e económica, pelo que, ao criar um novo produto, é imperativo assegurar ao máximo a sua qualidade e segurança.

Neste contexto, o presente estudo teve por objetivo a identificação de um potencial coagulante de origem vegetal, extraído das folhas da *Ficus carica* e aplicável na produção de queijo, como alternativa aos coalhos comumente utilizados, tanto de origem vegetal, como animal.

Nesse sentido, realizaram-se testes laboratoriais *in vitro* e, posteriormente, à escala piloto, com base na utilização de folhas moídas e secas em queijo fresco, para determinar as melhores condições de extração e concentrações a aplicar ao leite, de forma a conseguir uma coagulação rápida, uniforme e um rendimento considerável.

Com a elaboração destes testes, verificou-se ser necessário uma quantidade de extrato elevada (10%) no queijo produzido, uma vez que quantidades inferiores não apresentaram a capacidade coagulante desejável, estabelecendo o ext.2 como sendo o que reuniu melhor condição (temperatura ambiente por 30 minutos).

Queijos frescos, elaborados com o coalho na proporção otimizada nos testes *in vitro*, foram avaliados sob perspetiva físico-química, nutricional, microbiológica e sensorial. Nas condições dos ensaios, os parâmetros avaliados revelaram-se dentro dos valores expectáveis e considerados seguros, de acordo com os critérios estabelecidos.

Os resultados deste trabalho indicam a potencial valorização das folhas de figueira como matéria-prima para coalho vegetal sendo, no entanto, necessária a otimização de parâmetros de processo de extração e fabrico que permitem maximizar a aceitação sensorial do produto final.

Palavras-Chave: Análise microbiológica; Análise sensorial; Coagulação; Extrato de folhas de figueira; Queijo fresco.

Abstract:

The valorization of by-products from agro-industrial production constitutes, nowadays, an important investment and tool in the search for social and economic sustainability, therefore, when creating a new product, it is imperative to ensure its quality and safety as much as possible.

In this context, the present study aimed to identify a potential coagulant of vegetable origin, extracted from the leaves of *Ficus carica* and applicable in the production of cheese, as an alternative to commonly used rennet, both of vegetable and animal origin.

In this sense, in vitro laboratory tests were carried out and, subsequently, on a pilot scale, based on the use of ground and dried leaves in fresh cheese, to determine the best extraction conditions and concentrations to be applied to the milk, in order to achieve a rapid, uniform coagulation and considerable yield.

With the development of these tests, it was found that a high amount of extract (10%) was necessary in the cheese produced, since lower amounts did not present the desirable coagulating capacity, establishing ext.2 as being the one that met the best condition (temperature environment for 30 minutes).

Fresh cheeses, made with rennet in the proportion optimized in vitro tests, were evaluated from a physical-chemical, nutritional, microbiological and sensorial perspective. Under the test conditions, the parameters evaluated were within expected values and considered safe, according to the established criteria.

The results of this work indicate the potential valorization of fig leaves as raw material for vegetable rennet, however, it is necessary to optimize extraction and manufacturing process parameters that allow maximizing the sensorial acceptance of the final product.

Keywords: Microbiological analysis; Sensory analysis; Coagulation; Fig leaf extract; Fresh cheese.

Lista de figuras:

Figura 1 Exportação mundial de queijo.....	3
Figura 2 Mercado de Produção de Queijo na UE e fora da UE.....	4
Figura 3 Caracterização do mercado mundial quanto ao consumo e produção de queijo .	4
Figura 4 Composição nutricional do queijo fresco de vaca	10
Figura 5 Exemplo de rótulo de queijo fresco	12
Figura 6 Marca de salubridade	12
Figura 7 Diagrama do procedimento aplicado às folhas e galhos da Ficus carica de Marseille	34
Figura 8 Fluxograma do queijo fresco com extrato de folhas de figueira.....	43
Figura 9 Bilhas de leite.....	44
Figura 10 Pasteurizador de placas	44
Figura 11 Coadjuvantes (cloreto de sódio, extrato líquido de figueira e leite em pó)....	44
Figura 12 Coalhada (com extrato de folha de figueira).....	45
Figura 13 Enchimento dos moldes	45
Figura 14 LACTOSCAN SP ultrasonic milk analyzer.....	47
Figura 15 Processo de decantação na determinação da acidez titulável.....	48
Figura 16 Processo de humidade do queijo	48
Figura 17 Hott, digestor e destilador (proteína)	48
Figura 18 Potenciômetro Hanna (pH)	49
Figura 19 Parâmetros CIE L*a*b*	50
Figura 20 Comportamento reológico do queijo.....	50
Figura 21 Comparação física, química e nutricional a t_0 e a t_1	59
Figura 22 Evolução da cor do novo produto durante uma semana de armazenamento em refrigeração.....	60
Figura 23 Comportamento das propriedades texturais do novo produto (evolução ao fim de uma semana de produção).....	61
Figura 24 Quantificação microbiana no queijo fresco no dia de produção (t_0) e ao fim de uma semana de armazenamento (t_1)	62
Figura 25 Avaliação em termos de idade do painel.....	64
Figura 26 Caracterização dos atributos do novo produto.....	64
Figura 27 Intenção de compra por parte dos provadores.....	65

Lista de tabelas:

Tabela 1 Produção de queijo de vaca em Portugal	3
Tabela 2 Funcionalidade nutricional e tecnológica do leite	6
Tabela 3 Caracterização nutricional dos tipos de leite	7
Tabela 4 Características aplicadas ao leite de vaca (padrão).....	7
Tabela 5 Estudos sobre a aplicação de coalhos vegetais (e subprodutos) em queijo fresco	16
Tabela 6 Microrganismos patogénicos suscetíveis no leite e derivados láteos	21
Tabela 7 Classificação quanto à GES	26
Tabela 8 Valores mínimos de a_w para multiplicação de diferentes microrganismos patogénicos	27
Tabela 9 Classificação do queijo quanto ao teor de HIG	27
Tabela 10 Caracterização coagulante da figueira (1)	36
Tabela 11 Caracterização coagulante da figueira (2)	37
Tabela 12 Formulação de coadjuvantes na coagulação de leite	39
Tabela 13 Ensaio de produção com folha seca de figueira (1)	40
Tabela 14 Ensaio de produção com folha seca de figueira (2)	41
Tabela 15 Formulação de coadjuvantes no leite.....	42
Tabela 16 Formulação de coadjuvantes selecionada para produção de queijo fresco com extrato de folhas secas de figueira	46
Tabela 17 Verificação dos tempos de coagulação em função da incorporação de extrato no leite (1).....	52
Tabela 18 Verificação dos tempos de coagulação em função da incorporação de extrato no leite (2).....	53
Tabela 19 Verificação dos tempos de coagulação em função da incorporação de extrato no leite (3).....	54
Tabela 20 Queijo fresco com quimosina (enquanto comparação ao queijo fresco com extrato de figueira).....	55
Tabela 21 Otimização da caracterização do coalho vegetal	55
Tabela 22 Avaliação dos descritores do leite em comparação com os valores de referência	56
Tabela 23 Avaliação físico-química e nutricional do queijo.....	56
Tabela 24 Avaliação dos parâmetros da cor no queijo fresco com extrato de figueira..	57
Tabela 25 Propriedades texturais do queijo fresco com extrato de figueira.....	57

Tabela 26 Microbiologia do queijo fresco com extrato de folhas de figueira.....	58
Tabela 27 Comparação de pH e acidez com uma semana de intervalo.....	60
Tabela 28 Avaliação dos indicadores de segurança dos queijos a t_0 e t_1	63
Tabela 29 Experiências elaboradas com outros coalhos de origem vegetal.....	89
Tabela 30 Experiência com flor de <i>Cynara cardunculus</i> em queijo fresco	89
Tabela 31 Experiências preparadas com diferentes espécies do género <i>Ficus</i>	90

Lista de abreviaturas e siglas:

AOAC – Association of Official Analytical Chemists;

CA – Codex Alimentarius;

CE – Comissão Europeia;

CIE – Commission Internationale de l’Eclairage;

DGAV – Direção Geral da Alimentação e Veterinária;

DL – Decreto-Lei;

DOP – Denominação de origem protegida;

ESAC – Escola Superior Agrária de Coimbra;

EST – Extrato Seco Total;

ESTM – Escola Superior de Tecnologia e Turismo do Mar;

EXT2 – Extrato nº2 referente às folhas moídas à temperatura ambiente por 30 minutos;

FAO – Food and Agriculture Organization of the United States;

FDA – Food and Drug Administration;

GES – Gordura no extrato seco;

GPP – Gabinete de Planeamento e Políticas e Administração Geral;

HIG – Humidade Isenta de Gordura;

HPA – Health Protection Agency;

INE – Instituto Nacional de Estatística;

INSA – Instituto Nacional de Saúde (Dr. Ricardo Jorge);

IPC – Instituto Politécnico de Coimbra;

IPL – Instituto Politécnico de Leiria;

ISO – International Organization for Standardization;

LTA – Laboratório de Tecnologia Alimentar;

MARE – Centro de Ciências do Mar e do Ambiente;

NP – Norma Portuguesa;

OECD – The Organization for Economic Co-operation and Development (United States);

OTL – Oficina Tecnológica dos Laticínios;

pH – potencial Hidrogénico;

TPA – Texture Profile Analysis;

UE – União Europeia;

Índice:

Agradecimentos:.....	V
Resumo:.....	VI
Abstract:	VII
Lista de figuras:	VIII
Lista de tabelas:	IX
Lista de abreviaturas e siglas:.....	XI
1. Introdução:	2
1.1. Objetivos do trabalho:.....	2
2. Caracterização do mercado do queijo:	3
2.1. Exportações e importações:	3
2.2. Produção e consumo:	3
3. Fabrico e produção de queijo e conceitos de qualidade:	5
3.1. Composição nutricional dos tipos de leite mais usados no fabrico de queijo: ..	6
3.2. Tecnologia geral da produção do queijo:.....	8
3.2.1. Composição nutricional dos queijos:.....	9
3.2.2. Função dos coadjuvantes:	10
3.2.3. Conservação / preservação do queijo e embalagem:	11
3.2.4. Rotulagem dos queijos frescos:	11
3.3. Coagulantes existentes:.....	12
3.3.1. Enzimas capazes de coagular o leite e as suas funções:	13
3.3.2. Identificação e apresentação de coalhos de origem vegetal:	13
3.3.3. Estudos da atividade coagulante com coalho vegetal:.....	15
3.3.4. Potencial ação coagulante da figueira:.....	17
3.3.4.1. Caracterização da figueira:	18
3.4. Segurança alimentar e controlo da qualidade nos produtos láteos:	20
3.4.1. Microrganismos patogénicos suscetíveis no leite:.....	20

3.4.2.	Perigos e fontes de contaminação no queijo:.....	21
3.4.3.	Controlo da qualidade em queijo fresco:	22
4.	Caraterização física, química, microbiológica, nutricional e sensorial de produtos láteos como o queijo fresco:	22
4.1.	Avaliação física e química do leite:	22
4.2.	Microbiologia do queijo fresco:.....	23
4.3.	Avaliação física e química do queijo fresco:	26
4.4.	Reologia e propriedades texturais do queijo fresco:	29
4.5.	Parâmetros da cor do queijo fresco:.....	30
4.6.	Avaliação sensorial dos alimentos (como o queijo fresco):.....	31
5.	Material e Métodos:	33
5.1.	Testes-piloto realizados aos extratos de figueira:	33
5.1.1.	Avaliação de atividade coagulante em extratos de figueira:.....	33
5.1.2.	Preparação do material – folhas de figueira – utilizado para a obtenção dos extratos:.....	34
5.1.3.	Métodos aplicados com subprodutos de figueira:.....	34
5.1.4.	Caraterização do coagulante de figueira:	35
5.1.5.	Avaliação da funcionalidade coagulante:	38
5.1.6.	Procedimento de extração e coagulação com biomassa fresca:.....	38
5.1.7.	Formulações de coadjuvantes:	39
5.2.	Ensaio de produção do queijo com o extrato de figueira, e validação das condições determinadas <i>in vitro</i> :	39
5.2.1.	Apuramento da formulação usando leite em natureza:	40
5.2.2.	Formulações de coadjuvantes testadas:	41
5.2.3.	Otimização da coagulação com folha seca de figueira e validação da sua atividade coagulante no queijo fresco:	42
5.3.	Processo de fabrico do queijo fresco:	42
5.3.1.	Fluxograma do novo produto e respetivas etapas:.....	42

5.3.2.	Formulação de coadjuvantes aplicados ao novo produto (Queijo fresco com extrato de folhas secas de figueira):	45
5.4.	Análises efetuadas em meio laboratorial:	46
5.4.1.	Avaliação microbiológica:	46
5.4.2.	Análise físico-química aplicada ao leite de vaca:	46
5.4.3.	Análises físico-químicas do novo produto:	47
5.4.4.	Avaliação dos parâmetros da cor do novo produto:	49
5.4.5.	Avaliação dos descritores da textura do novo produto:	50
5.4.6.	Avaliação sensorial do novo produto:	51
6.	Resultados e Discussão:	52
6.1.	Ensaio de produção do queijo com o extrato de figueira, e validação das condições determinadas <i>in vitro</i> :	52
6.1.1.	Potencialidade de extração das folhas de figueira em queijos:	52
6.2.	Otimização da coagulação com folhas de figueira e validação da sua atividade coagulante no queijo fresco:	55
6.2.1.	Caraterização física, química e nutricional do leite usado:	55
6.2.2.	Validação do queijo com extrato de figueira sob perspectiva física, química, nutricional e microbiológica:	56
6.3.	Caraterização física, química, nutricional, microbiológica, da cor e da textura durante uma semana de armazenamento:	59
6.4.	Avaliação sensorial aos atributos do novo produto:	64
6.5.	Análise SWOT aplicada ao novo produto:	65
7.	Considerações finais e perspectivas futuras:	67
8.	Referências bibliográficas:	68
9.	Anexos:	88

1. Introdução:

No âmbito do curso de Mestrado em Gastronomia, do Instituto Politécnico de Leiria, esta dissertação resultou de um trabalho desenvolvido na Escola Superior de Tecnologia e Turismo do Mar (ESTM), do Instituto Politécnico de Leiria (IPL), e na Escola Superior Agrária de Coimbra (ESAC), do Instituto Politécnico de Coimbra (IPC).

No presente contexto socioeconómico em que há uma crescente procura por novos produtos e pela valorização de coprodutos, visando a inovação e a sustentabilidade, o tema desenvolvido, “produção de um queijo fresco com recurso a um extrato de folhas de figueira, como agente coagulante”, caracteriza-se por ser atual e pertinente.

Após terem sido estabelecidos os objetivos de trabalho, as principais atividades a serem realizadas foram a determinação da capacidade e atividade coagulante dos extratos de folhas de figueira, e a aferição da quantidade de biomassa necessária para a coagulação do leite. Foi importante analisar as várias quantidades de folhas de figueira (e respetivos extratos), em combinação com os coadjuvantes necessários à coagulação do leite, com a finalidade de se determinar também a atividade e tempos de coagulação dos mesmos.

As tarefas foram realizadas no **Laboratório de Tecnologia Alimentar** da ESTM, numa perspetiva de otimizar as condições e métodos aplicados às folhas de figueira e verificar a sua capacidade coagulante. Posteriormente, na ESAC, foram produzidos, em maior escala, os queijos frescos (na **Oficina Tecnológica dos Laticínios (OTL)**), que foram avaliados em termos microbiológicos, nutricionais, químicos, físicos e sensoriais.

1.1. Objetivos do trabalho:

Para o desenvolvimento desta dissertação, foi imperativo estabelecer alguns objetivos de trabalho relativos à produção de queijo fresco e à atividade coagulante das folhas de figueira. Tendo em vista as tarefas e atividades previstas para alcançar estes objetivos, listam-se os tópicos de trabalho desenvolvidos na ESAC e na ESTM:

- ❖ Desenvolvimento de um produto láteo inovador, com valorização de alguns coprodutos, no contexto da economia circular: ensaios com diferentes lotes de produto, de acordo com as diferentes variedades testadas;
- ❖ Caracterização preliminar do produto sob perspetiva microbiológica, sensorial, físico-química e nutricional;
- ❖ Comparação e verificação com os critérios de qualidade / valores de referência;

2. Caraterização do mercado do queijo:

2.1. Exportações e importações:

Nos últimos anos até 2019, as exportações internacionais de queijo aumentaram pelo 5º ano consecutivo, em 4,1%, impulsionadas pela elevada procura dos mercados emergentes (FAO, 2021, citado por Ali *et al.*, 2022), GPP, 2019, citado por Costa, 2021). Na figura 1, observam-se os países com maior exportação no mundo, tendo-se verificado que, em 2019, ocorreu uma maior exportação pelos países da Europa, nomeadamente a Alemanha, a França e a Holanda (GPP, 2019, citado por Costa, 2021).

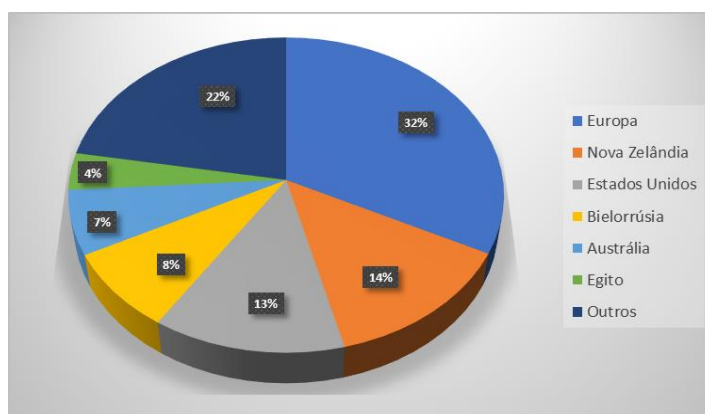


Figura 1 Exportação mundial de queijo

Verificou-se que, em 2019, os principais importadores de queijo do mundo foram a China, o Japão e a Rússia e, na Europa, foram a Alemanha, Itália e Reino Unido (CE, 2020, citado por Costa, 2021; FAO e OECD, 2019, citado por Costa, 2021).

2.2. Produção e consumo:

Com base na tabela 1, verifica-se uma ligeira oscilação na produção de queijo de vaca em Portugal entre 2016 e 2020 (INE, 2020, citado por Lopes, 2022). Em 2020, o leite e os seus derivados representaram aproximadamente 11% do valor acrescentado bruto total gerado pela indústria agroalimentar e das bebidas (INE, 2016, citado por Costa, 2021).

Tabela 1 Produção de queijo de vaca em Portugal

Queijo de vaca (toneladas)	2016	2017	2018	2019	2020
	59900	62500	60800	65400	63100

Em 2018, o queijo fresco representou 15% do consumo de queijo no mercado português (Barbosa *et al.*, 2018). Segundo a Eurostat (2019), o queijo fresco representou

a maior parte da produção total de queijo nos países da UE, num valor que corresponde a 3,5 milhões de toneladas, valores que se encontram na figura 2.

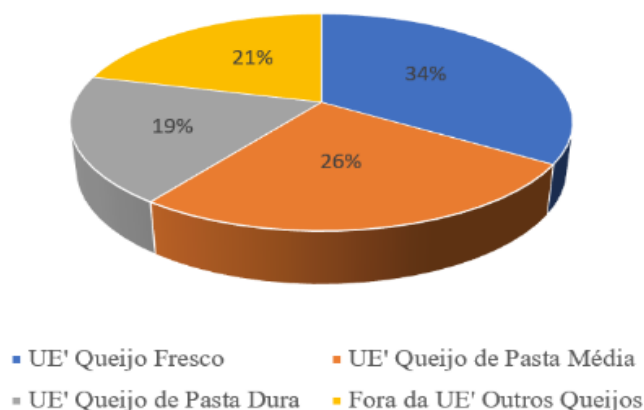


Figura 2 Mercado de Produção de Queijo na UE e fora da UE

Em 2020 e, com base na figura 3 (Statista, 2020, citado por Lopes, 2022), é possível avaliar que os países da Europa foram os maiores produtores e consumidores de queijo, destacando a Alemanha, França e Itália como os países da Europa com maior produção de queijo (FAO e OECD, 2020, citado por Costa, 2021).

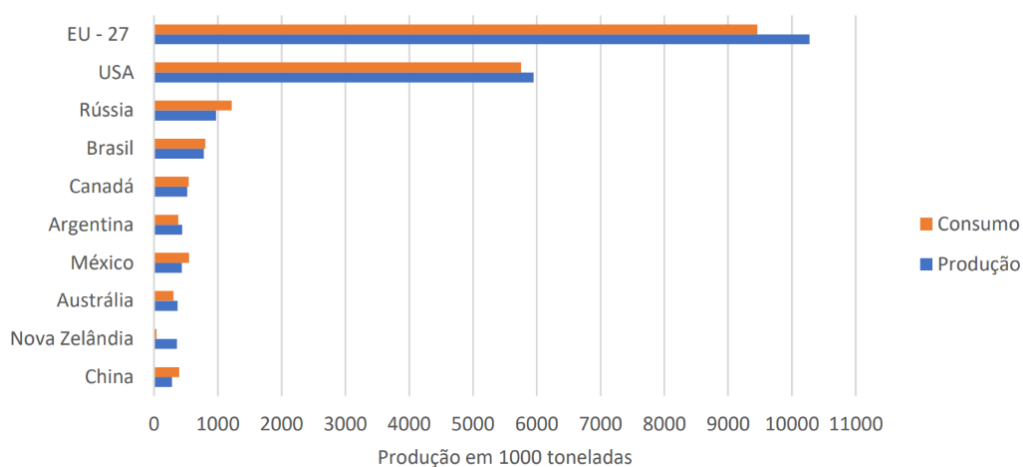


Figura 3 Caracterização do mercado mundial quanto ao consumo e produção de queijo

Em Portugal, o queijo, seja ele de leite de vaca ou pequenos ruminantes, assume um destaque especial, quer pela quantidade consumida quer pela diversidade, tipos e variedades existentes, características das diversas regiões de Portugal. Alguns dos queijos fabricados em Portugal possuem o estatuto DOP, sendo muitos elaborados em zonas restritas (Fernandes, 2015).

Com isso, é de especial interesse que o mercado do queijo aposte não só em novos tipos de queijos, como implemente novas formas de inovar e recriar, seja no fabrico, na

utilização e/ou valorização de produtos autóctones nos mesmos, com a finalidade de evoluir em termos de sustentabilidade e poder chegar a novos consumidores.

3. Fabrico e produção de queijo e conceitos de qualidade:

Na obtenção de produtos láteos, um dos fatores essenciais é a qualidade da matéria-prima sendo o leite de vaca¹, a mais importante. Este pode ser descrito como um líquido fisiologicamente complexo e nutricionalmente rico em proteínas e lípidos (fase aquosa contínua) e rico em lactose, vitaminas e minerais (fase dispersa) com características físico-químicas que permitem que seja usado no fabrico de diversos produtos láteos (FDA, 2017, citado por Lopes, 2022; Lopes, 2022).

A composição do leite de vaca está dependente de alguns fatores como a idade do animal, a alimentação, a raça, a fase da lactação e o estado de saúde do efetivo (Cogan *et al.*, 2000). Por essa razão, a qualidade do produto final obtido depende da qualidade do leite e do processo de fabrico associado a este. No entanto, o leite destinado à produção dos laticínios, deve passar por um rigoroso controlo da qualidade, de forma a perceber se o leite está apto a ser utilizado na produção (Bandeira, 2010).

A boa qualidade microbiológica do leite é vital para a obtenção de queijos bons e com alta durabilidade. Independentemente se o leite é cru ou pasteurizado, pressupõe-se que seja obtido de um gado saudável, que sejam aplicadas boas práticas de higiene durante a ordenha, no seu manuseamento e transporte, e que seja refrigerado a temperaturas entre os 0° e os 4 °C, no máximo até 2 horas após a ordenha (Pinto, 2011).

Como principais fatores que afetam a carga microbiana do leite, destacam-se a taxa de multiplicação microbiana (depende do tempo e temperatura de armazenamento), o grau de contaminação inicial, proveniente do equipamento e dos utensílios da água, ordenha e exterior do úbere e a glândula mamária (Ferreira & Sousa, 2002, citado por Fernandes, 2017).

O leite de vaca é um alimento de elevada densidade nutricional e que fornece bastante energia (Alwazeer *et al.*, 2020, citado por Lopes, 2022). De acordo com o tratamento térmico realizado ao leite pode ser classificado por leite cru, leite pasteurizado,

¹ O leite de vaca é definido como “a secreção láctea, praticamente livre de colostro, obtido pela ordenha completa de uma ou mais vacas saudáveis, que pode ser clarificado por separação de parte da gordura do mesmo, leite concentrado e reconstituído (FDA, 2017, citado por Lopes, 2022).

leite UHT e leite esterilizado (Fernandes, 2013). O objetivo da pasteurização é reduzir a sua carga microbiana para níveis aceitáveis e eliminar a presença de possíveis microrganismos patogénicos termicamente sensíveis, minimizando a perda de vitaminas e possibilitando a otimização do período de conservação do produto (Ebing *et al.*, 2005, citado por Lopes, 2022; Fox *et al.*, 1998, citado por Lopes, 2022).

3.1. Composição nutricional dos tipos de leite mais usados no fabrico de queijo:

Na tabela 2 encontra-se compilada informação sobre a funcionalidade nutricional e tecnológica do leite (Barbosa *et al.*, 2016; Brito *et al.*, 2005, citado por Figueiredo, 2001; Custódio, 2014; Ebing *et al.*, 2005, citado por Lopes, 2022; Fernandes, 2013; Fox *et al.*, 1998, citado por Lopes, 2022; Sousa, 2013, citado por Lopes, 2022).

Tabela 2 Funcionalidade nutricional e tecnológica do leite

	Funções / características
Hidratos de Carbono	Como dissacarídeo, destaca-se a lactose, que representa quase a totalidade dos açúcares no leite, responsável pelo seu sabor doce, em proporções que se situam entre 45- 50 g/l (4,5-5% (m/v) de lactose no leite)) e favorece a assimilação de cálcio e de matérias azotadas. São os <i>Lactobacillus</i> e os <i>Streptococcus</i> que metabolizam e transformam a lactose em ácido láctico (Ebing <i>et al.</i> , 2005, citado por Lopes, 2022; Fox <i>et al.</i> , 1998, citado por Lopes, 2022; Sousa, 2013, citado por Lopes, 2022).
Vitaminas e Sais Minerais	Destaca-se a presença da vitamina B e C (como solúvel em água) e da vitamina A, D, E e K (como insolúvel em água). O cálcio apresenta-se como o principal mineral presente no leite de vaca, e pode melhorar a sua absorção no trato gastrointestinal aquando da associação com a caseína (Custódio, 2014; Fernandes, 2013; Fox <i>et al.</i> , 1998, citado por Lopes, 2022).
Proteína	Fornecer proteínas de alto valor biológico, representadas pelas caseínas (80%) e pelas proteínas do soro (20%), como as albuminas e globulinas que, a temperaturas superiores a 80 °C, se desnaturam. As caseínas são responsáveis pelo rendimento dos queijos, contribuindo na consistência e na cor e representam a maior concentração de elementos sólidos nos queijos (Barbosa <i>et al.</i> , 2016; Brito <i>et al.</i> , 2005, citado por Figueiredo, 2001).
Matéria Gorda	Composta por um núcleo central, onde se destacam os triglicéridos (98%), seguido dos esteróis, fosfolípidos e ácidos gordos livres. São fáceis de digerir e o organismo utiliza-as como fonte de energia armazenando-as como reserva. Classificação: Leite magro ($\leq 0,5\%$ de gordura), leite meio gordo parcialmente desnatado (1,5-1,8% de gordura) ou leite gordo ($\geq 3,5\%$ de gordura) (Brito <i>et al.</i> , 2005, citado por Figueiredo, 2001; Ebing <i>et al.</i> , 2005, citado por Lopes, 2022).

De acordo com os valores fornecidos por Cogan *et al.* (2000) e Monteiro *et al.* (2000), citado por Lopes (2022), patentes na tabela 3, a composição do leite de vaca e de cabra caracteriza-se por ser mais ou menos semelhante entre si, destacando-se o elevado teor nutricional do leite de ovelha.

Tabela 3 Caracterização nutricional dos tipos de leite

Componente	Composição (%) (M/M)		
	Vaca	Ovelha	Cabra
Sólidos totais	12,7	19,3	12,3
Matéria gorda	3,7	7,4	4,5
Proteína	3,4	4,5	2,9
Lactose	4,8	4,8	4,1
Cinzas	0,7	1,0	0,8

Na tabela 4, encontram-se algumas das características a ter em conta num leite de vaca em termos microbiológicos, físicos e químicos.

Tabela 4 Características aplicadas ao leite de vaca (padrão)

Índice crioscópico – máx.	-0,520 °C	ISO 5764:2009
Impurezas em suspensão– máx.	Grau 1	NP 454:1985
Prova de azul de metileno	4h 30m	NP 456:1983
Acidez titulável (torner)	< 21°T	NP 470:1983
Teor de germes a 30 °C / ml – máx.	100 000 ufc/g	DGAV, 2020
Teor de células somáticas / ml – máx.	400 000	DGAV, 2020
Pesquisa de microrganismos butíricos	Negativa	-----
Número de microrganismos psicrotróficos	≤ 30 000	NP 2307:1987
Número de bactérias termorresistentes	≤ 10 000	NP 462:1983
Pesquisa de germes esporulados anaeróbios: prova de Weizirl	Negativo em 10 cm ³	NP 577:1987

O leite em pó ou leite desidratado caracteriza-se por ser um derivado do leite natural, obtido pela desidratação do leite de vaca (integral, desnatado ou parcialmente desnatado), mediante processos tecnologicamente adequados. É um bom substituto do leite em natureza e encontra-se presente em diversos produtos alimentares processados, destacando-se pelas suas propriedades emulsificantes e espumantes (Augustin & Margetts, 2003).

No final, é possível obter um produto com um tempo de vida útil mais alargado, que mantém as suas características organolépticas e pode ser utilizado como substituto do

leite em natureza, quando misturado com água. Referir que entre o leite em pó e o leite em natureza, não existem grandes variações na sua composição nutricional (Silva, 2013).

A transformação do leite em alimentos como o queijo permite diversificar e melhorar a qualidade nutricional da nossa alimentação diária, pois caracteriza-se como um alimento altamente nutritivo (Macedo, 2018), sobretudo pelo elevado teor de proteína, que pode ir até aos 30%, consoante o seu modo de fabrico (Eck, 1990, citado por Macedo, 2018).

Enquanto processos gerais de conservação do leite, existem três métodos: se o objetivo é dificultar a ação microbiana e enzimática sem os destruir, recorre-se a métodos biológicos (fermentações), físicos (refrigeração, congelação) ou químicos (acidificação). Todavia, se o objetivo é a destruição microbiana e enzimática, pode-se recorrer à esterilização ou pasteurização (Alves *et al.*, 2012). Segundo Pinto (2011), é essencial conhecer a composição do leite para a determinação da sua qualidade, já que define diversas propriedades organoléticas e industriais.

3.2. Tecnologia geral da produção do queijo:

Na história da humanidade, o queijo é um dos mais antigos alimentos processados, de que há registo. Na ausência da refrigeração, a sua preparação possibilitou conservar o leite dando simultaneamente origem a um alimento altamente nutritivo, de fácil manuseamento, armazenamento e transporte (Fernandes, 2015).

Como referido anteriormente, antes de iniciar o fabrico de queijo é necessário sujeitar o leite a uma série de procedimentos e análises, com vista a obter um produto final de alta qualidade e homogéneo. O leite é sujeito a análises físico-químicas de forma a avaliar a sua qualidade e estabilidade (Pinto, 2011).

Destacar que a pasteurização do leite é uma das etapas mais importantes no processo de fabrico do queijo fresco, cujo principal objetivo é o de destruir todos os microrganismos patogénicos, a uma temperatura de 72 °C por 15 segundos. A coagulação é outra das etapas fulcrais, que pode ser realizada através da utilização de enzimas proteolíticas, de origem microbiana ou de origem ácida (Cavalcante, 2004, citado por Fernandes, 2013b).

O queijo é um produto obtido a partir da coagulação do leite que pode ocorrer, por acidificação (a partir de uma cultura bacteriana), por ação enzimática (a partir da adição

de um coalho animal / vegetal) ou pela mistura dos dois, onde entra uma pequena quantidade de coalho em simultâneo com o processo de acidificação (Fox *et al.*, 2017 citado por Moreira, 2019).

A produção de ácido desempenha o papel de controlar e prevenir o crescimento de bactérias de alteração e patogénicas, afeta a retenção e a atividade do coagulante durante a coagulação; solubiliza fosfato de cálcio (afeta a textura do queijo) e influencia a composição do queijo. Assim, mudanças físicas das proteínas do queijo influenciam a solubilidade, a conformação e a sua textura, logo aumenta a sua interação com a água e torna-a menos disponível para processos bioquímicos (Carvalho *et al.*, 2009).

O queijo fresco deve ser sempre armazenado em refrigeração a uma temperatura entre os 0° e os 5 °C, mantendo-o nestas condições num período de validade máximo de 5 dias. O seu processamento é fundamental na definição da textura e sabor de vários queijos. Existem alguns critérios de classificação do queijo; quanto ao modo de obtenção e tratamento da massa, à cura, à consistência e ao teor de matéria gorda (Alves, 2018).

Segundo Oliveira (2010), o queijo fresco destaca-se por ser versátil, tanto no seu formato e tamanho (geralmente assume uma forma cilíndrica), como na forma em que é servido ao consumidor (como entrada, salada, lanche, sobremesa, em prato principal ou ao pequeno-almoço).

Os queijos, geralmente, costumam passar pelas etapas da pasteurização, da coagulação e do dessoramento da coalhada. A caseína coagula e o leite separa-se; numa parte sólida, obtém-se a coalhada e, numa parte líquida, obtém-se o soro. No entanto, os queijos frescos, tal como previsto na Norma Portuguesa (NP 1921-1985), diferem dos queijos curados e/ou maturados, na medida que os frescos não passam posteriormente pela maturação, cura e salga, que são fulcrais para a textura e consistência de um queijo curado.

3.2.1. Composição nutricional dos queijos:

A composição do queijo varia muito em função da composição do leite que determina o seu valor nutritivo, a sua capacidade para ser usado como matéria-prima no fabrico dos produtos láteos e as suas características físico-químicas e organoléticas (Valsechi, 2001, citado por Veiga, 2012). Os lípidos encontram-se sob a forma de emulsão, o que permite assim aumentar a sua digestibilidade. São compostos de uma

mistura de ácidos gordos saturados, mono e polinsaturados (Ochoa *et al.*, 2004, citado por Veiga, 2012).

O teor de aminoácidos essenciais das proteínas dos queijos confere-lhes um alto valor biológico, permite uma digestibilidade próxima dos 95% e fornece ao organismo aminoácidos necessários ao seu desenvolvimento. Destaca-se a presença dos minerais (cálcio, zinco e potássio), das vitaminas A, B2 e B9 e a caseína como a proteína predominante no queijo (Ferreira & Pinho, 2006, citado por Veiga, 2012).

A gordura do leite influencia o *flavor* e a textura dos queijos. Um teor deficiente pode ter um forte impacto na estrutura dos produtos láteos, nas interações entre componentes e com alterações visíveis no sabor, textura e cor (Bayarri & Costell, 2009, citado por Moreira, 2019), porém, queijos com alto teor de gordura podem induzir numa coagulação mais lenta e maior rendimento (Ferreira & Pinho, 2006, citado por Veiga, 2012).

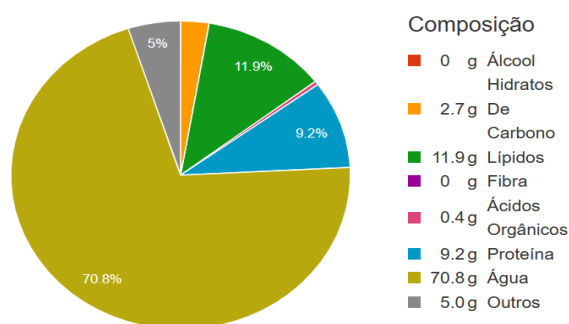


Figura 4 Composição nutricional do queijo fresco de vaca

O queijo fresco de vaca é rico em proteína, porém também em lípidos, como se pode verificar pela análise da figura 4 (INSA, 2023), que mostra a composição nutricional de um queijo fresco de vaca meio gordo por 100g. O seu elevado teor em água e o facto de não ter uma “casca” (no caso dos curados), torna-o num produto mais frágil do ponto de vista da segurança e qualidade alimentar (Ochoa *et al.*, 2004, citado por Veiga, 2012).

3.2.2. Função dos coadjuvantes:

O cloreto de sódio é geralmente incorporado em produtos láteos para conferir sabor, enquanto ingrediente aromatizante e conservante (Guiné & Raposa, 2004, citado por Abdeen *et al.*, 2011; Walstra *et al.*, 1999, citado por Abdeen *et al.*, 2011), para inibir a proliferação de patogénicos e bolores indesejáveis, promover a sinérese e regular a humidade da coalhada (Macedo, 2018).

O cloreto de cálcio faz aumentar o teor de cálcio coloidal, leva à diminuição do pH e da estabilidade das micelas, o que favorece a atuação das enzimas coagulantes. Por outro lado, ocorre uma diminuição do tempo de coagulação, um aumento da firmeza do gel formado e da velocidade de agregação micelar (Brule e Lenoir, 1987).

3.2.3. Conservação / preservação do queijo e embalagem:

É de conhecimento geral que alguns fatores físico-químicos, incluindo a natureza proteica, o pH, a temperatura e a composição de gordura, exibem diferentes efeitos sobre a deterioração e os aspetos de segurança do queijo (Hayaloglu, 2016, citado por Ali *et al.*, 2022). Contaminações cruzadas (tipo de embalagem ou no pós-pasteurização) e erros do manipulador destacam-se como excelentes na degradação deste produto láteo (Heiman *et al.*, 2016, citado por Ali *et al.*, 2022).

A preservação do queijo tornou-se uma questão importante para a indústria global de queijos devido à deterioração microbiana e aos efeitos dos conservantes químicos na saúde humana. Assim, Ali *et al.* (2022), descreve algumas estratégias de preservação, que não afetam negativamente o produto final, tais como: aplicação de vários extratos vegetais e óleos essenciais, incorporação direta de agentes antimicrobianos naturais, tecnologias avançadas de preservação não térmica, e tecnologias de embalagem (biofilmes ativos).

Estas estratégias têm despertado grande interesse e procura pelo conceito de sustentabilidade, processo de expansão e efeitos não tóxicos (De Moraes, Hilton, & Moraru, 2020, citado por Ali *et al.*, 2022) e (Ricciardi *et al.*, 2021, citado por Ali *et al.*, 2022), por serem materiais que se cruzam com agentes bioativos potenciais, sendo vital a sua utilização, com vista a controlar a oxidação lipídica e a inibir o crescimento de microrganismos indesejáveis no queijo (Ali *et al.*, 2022).

3.2.4. Rotulagem dos queijos frescos:

Segundo o Decreto-Lei n.º 62/2017, de 09 de junho² e o Regulamento (UE) n.º 1169/2011, de 25 de outubro³, o rótulo (figura 5 (Eat Clean get lean, 2015)) funciona como “o bilhete de identidade do queijo”, onde deve constar um conjunto de informações do produto alimentar, como o “tipo de queijo, matérias-primas / ingredientes, a

² DL n.º 62/2017, de 09 de junho, relativo à composição, rotulagem e comercialização do leite, dos produtos derivados do leite e aos produtos extraídos do leite;

³ Regulamento (UE) n.º 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 25 de outubro, relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios).

composição nutricional, as condições e o período de conservação e ainda a identificação do produtor”.



Figura 5 Exemplo de rótulo de queijo fresco

A marca de salubridade (figura 6 (Qualfood, s/d)) é o elemento do rótulo que transmite uma maior certeza ao consumidor de que o produto foi fabricado em condições e nas características adequadas e respeitando as normas aplicadas ao fabrico do queijo fresco (Dias, 2020).

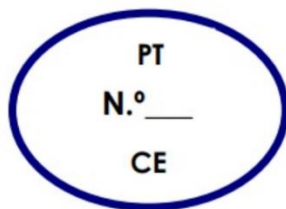


Figura 6 Marca de salubridade

3.3. Coagulantes existentes:

Segundo Mourão (2023), “**coagulante**” é toda a substância capaz de coagular o leite, enquanto o coalho é o tipo de agente coagulante. Desta maneira, foram identificados cinco (5) tipos de agentes coagulantes utilizados na fabricação de queijo, nomeadamente:

- Coalho de origem animal;
- Coalho de quimosina de origem microbiana (Fox & Lucey, 1993, citado por Lopes, 2022);
- Coalho de quimosina produzida por manipulação genética (Fox & Lucey, 1993, citado por Lopes, 2022);
- Coagulação ácida (Brule & Lenoir, 1987);
- Coalho de origem vegetal;

Na prática, para ocorrer uma coagulação (seja ela de que tipo for), tem de ter em conta a quantidade de coalho a utilizar, ter em consideração o seu poder coagulante e o tipo de queijo que se deseja, condicionado ao tempo de coagulação, a temperatura, a acidez e as concentrações de caseína e de cálcio solúvel (Fernandes, 2013).

3.3.1. Enzimas capazes de coagular o leite e as suas funções:

Os coagulantes são essenciais na definição das características da coalhada; pelo que a utilização dos coalhos (sejam de que origem for) como agente na coagulação do leite é viável com a presença de enzimas proteolíticas ou proteases aspárticas, responsáveis pela hidrólise da principal proteína do leite (Abranches & Folgado, 2019, citado por Pina, 2022).

O conhecimento da atividade de coagulação do coagulante, permite selecionar a enzima mais adequada para cada tipo de queijo, ajustar a sua proporção no leite e otimizar o rendimento e qualidade deste (Payne & Tabayehnejad, 2012, citado por Pina, 2022).

O coalho animal é extraído do estômago dos ruminantes, que contém uma enzima, a “renina” a qual, quando adicionada ao leite, provoca a coagulação da caseína (Figueiredo, 2001); operação que ocorre geralmente a 32 °C, embora seja ótima a 40 °C, pois com temperaturas mais baixas, consegue-se adicionar mais teor de coalho e obtém-se uma coalhada menos densa (Cristianini *et al.*, 2018, citado por Pina, 2022).

Apesar de coagular o leite, a maioria dos coalhos vegetais mostrou-se inadequada para a produção de queijo pelo seu caráter altamente proteolítico e baixo rendimento, afetando a sua textura e produzindo sabores amargos no produto (Malcata & Silva, 2004, citado por Pina, 2022).

3.3.2. Identificação e apresentação de coalhos de origem vegetal:

A utilização de substitutos de coalho animal torna-se cada vez mais necessária devido à sua disponibilidade limitada e ao aumento de consumo de queijo (Guan *et al.*, 2021). Os coalhos vegetais são extraídos de plantas (frescas, moídas ou secas) ou de subprodutos (ramos, cascas, sementes, folhas, galhos, frutos ou caules).

O cardo é o exemplo mais referido na literatura, cuja enzima é a cardosina; depois a ficina (enzima da *Ficus carica*), que apresenta uma potência hemostática⁴, tornando desafiador caracterizá-la sob condições variáveis (Berenguer-Murcia *et al.*, 2021), o kiwi (actinidina), a papaia (papaína), a alcachofra (lupeol) e, por fim, o abacaxi (bromelina) (Mourão, 2023).

⁴ Potência hemostática: situação que se observa pela diversidade de extratos disponíveis, mudanças nos elementos da enzima ao longo da estação e condições ambientais.

Alguns estudos revelaram que as folhas de *Cynara cardunculus* apresentaram um elevado potencial agronómico e teor nutritivo, vitaminas B2 e C, baixo teor de hidratos de carbono e uma quantidade significativa de cálcio (Barracosa *et al.*, 2018, citado por Coelho, 2018). Em Portugal e em algumas regiões de Espanha, o extrato de flores de *Cynara cardunculus*, é referido no fabrico de queijos Serra e de queijos mais tradicionais (Afsharnezhad *et al.*, 2018).

Os substitutos do coalho animal devem possuir especificidade adequada da κ -caseína, alta relação-coagulação para proteólise geral, ser facilmente desnaturada durante o processo de dessoramento da coalhada e boa atividade no leite (McSweeney, 2007, citado por Bakhshi *et al.*, 2012).

Afsharnezhad *et al.* (2018), Ali *et al.* (2022), Anusha *et al.* (2014), citado por Abdeen *et al.* (2021), Barolo *et al.* (2014), citado por Arvaniti *et al.* (2019), Bruno *et al.* (2010), citado por Aloui *et al.* (2022), Cogan *et al.* (2000), Desta *et al.*, (2020), Lo Piero *et al.* (2002), citado por Abdeen *et al.* (2021) e Tesfaw (2021) revelaram que algumas das enzimas de coagulação do leite extraídas de plantas apresentam uma alta atividade, porém uma fraca sensibilidade ao calor, baixo rendimento e atividade coagulante, longos tempos de coagulação do leite, o que pode trazer um sabor amargo e uma textura quebradiça no produto final.

Algumas plantas revelaram uma atividade coagulante promissora, como *Solanum incanum*, *Benincasa cerifera*, *Ficus carica*, sementes de *Moringa oleifera*, *Galium verum*, *Ranunculus língua*, *Ananas comusus*, *Calotropis procera*, *Drosera rotundifolia* e ainda sementes de *Ricinus communis* (Desta *et al.*, 2020; Tesfaw, 2021).

Na Etiópia, também existe muito a tradição de coagular o leite recorrendo a plantas e extratos vegetais (Tesfaw, 2021). Segundo Barufaldi (2017) e Carvalho *et al.* (2009), temperaturas mais próximas dos 40 °C e de pH (\pm 6,0) estimulam a ação do coalho, altos teores de enzimas originam um menor tempo de coagulação do leite e tal como um teor mais alto de cálcio solúvel na coalhada a torna mais rápida e mais firme.

O estado de desenvolvimento e crescimento da espécie, as condições ambientais e de colheita, a forma de obtenção e o método de extração aplicado pode influenciar o poder coagulante dos extratos vegetais (Figueiredo, 2010).

Referir que o gel de coalhada formado é bastante estável, mas apresenta sinérese (saída do soro) quando é cortada, ou seja, pode ser fácil controlar o conteúdo de humidade da massa do queijo e a estabilidade do produto final (Carvalho *et al.*, 2009).

3.3.3. Estudos da atividade coagulante com coalho vegetal:

A valorização de subprodutos em queijo é uma das estratégias com maior interesse e procura. Todavia, estes podem conter contaminantes químicos ou potenciais agentes patogénicos perigosos à saúde dos consumidores, pelo que é vital garantir a qualidade e a sua segurança (Álvarez-Rivera *et al.*, 2021).

Pretendeu-se utilizar plantas que apresentam algum potencial industrial, promover a sua incorporação no setor alimentar e desenvolver novas soluções com o desafio principal de usar processos de extração mais sustentáveis, mantendo uma rentabilidade e eficiência na recuperação dos compostos de interesse (Amaral *et al.*, 2020).

Em termos de atividade, a ficina é idêntica à papaína, mas mais ácida, ligando-se com maior eficiência ao seu substrato. Esta é conhecida por melhorar a maciez da carne, atua como agente à prova de frio na cerveja e como condicionador de massa. Porém, o rendimento obtido de extração depende da espécie vegetal, dosagem usada, teor de água e da sua capacidade de coagulação (Arshad *et al.*, 2016, citado por Aider, 2021).

Apesar de existirem queijos produzidos com estes coagulantes em países no sul da Europa e da África Ocidental, a sua natureza proteolítica excessiva, o baixo rendimento e os defeitos detetados no sabor e textura do queijo, condicionam o seu fabrico em grande escala, pelo que se deve avaliar os padrões de degradação das caseínas e evitar efeitos desagradáveis no rendimento, consistência e sabor do queijo (Tesfaw, 2021).

Nesse sentido, conforme indicado na tabela 5, enumeram-se alguns estudos relativos a diversos coalhos vegetais aplicados, na sua grande maioria, em queijos frescos.

Tabela 5 Estudos sobre a aplicação de coalhos vegetais (e subprodutos) em queijo fresco

Planta / Tema	Condição de extração	Autor
Enzimas proteolíticas de <i>Cynara cardunculus</i>		Pintado <i>et al.</i> (2010/2011), citado por Amaral <i>et al.</i> (2020) Tavares <i>et al.</i> (2011), citado por Amaral <i>et al.</i> (2020)
Extrato fresco de ficina	Liofilizado, congelado ou refrigerado por 12 meses Incorporado 2% de extrato no leite	Aloui <i>et al.</i> (2021)
<i>Cynara cardunculus</i> , <i>Cynara humilis</i> e flor de alcachofra		Abd El-Salam <i>et al.</i> (2017), citado por Aloui <i>et al.</i> (2022)
Flor de <i>Carica papaya</i> e de <i>Calotropis procera</i>	3,3% de extrato incorporado	Adewumi & Akinloye (2014), citado por Aloui <i>et al.</i> (2022)
Folhas secas de <i>Carica papaya</i> e de <i>Moringa oleifera</i>	Solução de extração com NaCl a 5% em tampão acetato de sódio – incorporado 2% de extrato	Dagnev & Derso (2019) citado por Aloui <i>et al.</i> (2022)
Flor de <i>Cynara cardunculus</i>	0,4% de extrato incorporado	Agboola <i>et al.</i> (2009) citado por Aloui <i>et al.</i> (2022)
<i>Bromelia hieronymi</i>		Bruno <i>et al.</i> (2010) citado por Aloui <i>et al.</i> (2022)
<i>Cynara cardunculus</i> , <i>Cynara scomylus</i> e flor de <i>Citrus aurantium</i>		Caggia <i>et al.</i> (2022) citado por Pina (2022)
<i>Carica papaya</i> e <i>Ananas sativus</i>		Basso <i>et al.</i> (s/d), citado por Fernandes, 2013b
Flor de <i>Cynara scolymus</i>		Bornaz <i>et al.</i> (2010) citado por Aider (2021) Chazarra <i>et al.</i> (2007) citado por Bruno <i>et al.</i> (2009) Llorente <i>et al.</i> (2014) citado por Aloui <i>et al.</i> (2022)
<i>Cynara cardunculus</i>	Liofilização e congelação	Tejada <i>et al.</i> (2008) citado por Aloui <i>et al.</i> (2022)
<i>Actinidia deliciosa</i>		Puglisi <i>et al.</i> (2014) citado por Aloui <i>et al.</i> (2022)
<i>Carica papaya</i>		Waheed <i>et al.</i> (2017) citado por Aloui <i>et al.</i> (2022)
<i>Oryza sativa</i>		Asakura <i>et al.</i> (1997) citado por Bruno <i>et al.</i> (2009)
<i>Centaurea calcitrapa</i>		Tavaria <i>et al.</i> (1997) citado por Bruno <i>et al.</i> (2009)
<i>Silybum marianum</i>		Vairo <i>et al.</i> (2005) citado por Bruno <i>et al.</i> (2009)
Extrato bruto de flores de <i>Cynara humilis</i> e de <i>Cynara cardunculus</i>	1% de extrato incorporado	Esteves <i>et al.</i> (2003) citado por Aloui <i>et al.</i> (2022)
<i>Actinidia chinensis</i> , <i>Cucumis melo</i> e <i>Zingiber officinale</i>		Mazorra-Manzano <i>et al.</i> (2013), citado por Aloui <i>et al.</i> (2022)
<i>Cynara scolymus</i> e <i>Calotropis procera</i>		Chikpah <i>et al.</i> (2014) citado por Aloui <i>et al.</i> (2022) O'Connor (1993) citado por Aloui <i>et al.</i> (2022)

Foram desenvolvidas algumas experiências com diferentes coalhos vegetais, nomeadamente frutos de *Solanum incanum*, sementes sem casca de *Moringa oleifera*, sementes maduras de *Cucurbita maxima* e flor de *Cynara cardunculus*, que se encontram mencionados e descritos nas tabelas 29 e 30 do **anexo II**, verificando-se que, na experiência com a extração de óleo a frio de sementes sem casca de *Moringa oleifera*, a semente em estado bruto apresentou maior atividade coagulante quando dissolvida em tampão de acetato de sódio com pH 5. Ahmed *et al.* (2009), citado por Dejonghe *et al.* (2016), Abd El-Salam *et al.* (2017), citado por Aloui *et al.* (2022), Mazorra-Manzano *et al.* (2013), citado por Aloui *et al.* (2022) e Pontual *et al.* (2012), citado por Abdeen *et al.* (2021), revelaram resultados idênticos nas mesmas condições.

3.3.4. Potencial ação coagulante da figueira:

A crescente procura por queijo, a oferta insuficiente, os preços altos e as questões éticas associadas ao coalho animal justificam a introdução de alternativas aos produtos existentes no mercado, pela sua valorização, diferenciação e utilização de enzimas vegetais com potencial de coagular o leite (Arvaniti *et al.*, 2019; Sbhatu *et al.*, 2020).

Os subprodutos da figueira (folhas, cascas⁵, galhos e polpa) possuem teores elevados de antocianinas e pectinas, porém, são de exploração comercial limitada e descartada por causa da sua textura, deterioração, tamanho, amadurecimento inadequado e baixa qualidade (Albuquerque *et al.*, 2022), o que corresponde a uma perda económica real, que pode ser minimizada ao ser aplicada na produção de queijo (Barolo *et al.*, 2014, citado por Albuquerque *et al.*, 2022).

A figueira possui enzimas envolvidas no desencadeamento, regulação e execução dos tipos de processos biológicos e fisiológicos, como a diferenciação, desenvolvimento, degradação de proteínas, germinação, manutenção celular e crescimento (Baeyens-Volant *et al.*, 2015, citado por Albuquerque *et al.*, 2022; Baidamshina *et al.*, 2020, citado por Albuquerque *et al.*, 2022; Zare *et al.*, 2013, citado por Albuquerque *et al.*, 2022).

Faccia *et al.* (2019), citado por Aloui *et al.* (2022), usaram 1% de extrato de figueira para produzir queijo fresco de Caciocotta. Em comparação com a quimosina, o

⁵ As cascas e as folhas são os principais subprodutos da figueira valorizados pela sua riqueza nutricional e em moléculas bioativas.

extrato de figueira mostrou-se mais estável ao calor e manteve-se ativo a 110 °C⁶, permitindo produzir queijo fresco de cabra com leite pasteurizado (Bennuci *et al.*, 2019).

Segundo Aloui *et al.* (2021), a produção de queijo fresco de cabra obtido por quimosina (380g/l) foi superior à obtida com extratos de figueira frescos (305,9 g/l de leite), refrigerados (240,2 g/l de leite) e liofilizados (299,9 g/l de leite). O uso de ficina para a coagulação do leite pode ser mais adequado para produtos feitos a partir de leite de ovelha (Mohammed, 2021, citado por Aider, 2021).

O potencial conservante do extrato aquoso de folhas de figueira e folhas de oliveira foi conduzido por Abdel-Aziz *et al.* (2020), citado por Albuquerque *et al.* (2022), onde os seus resultados mostraram que 0,6% desses extratos prolongaram a vida útil do leite de búfala pasteurizado por 5-16 dias, sem influenciar as suas propriedades sensoriais.

Na região de Kabylia (Argélia), a ficina é extraída de folhas frescas de figueira e usada para preparar produtos locais, como o “agugli”⁷ (Gagaoua & Hafid, 2016, citado por Aider, 2021). Bornaz *et al.* (2010), citado por Aider (2021), estudaram a coagulação do leite de ovelha usando extratos de *Ficus carica*.

Apesar de estudos com extrato de figueira referirem na vertente sensorial aspetos menos agradáveis da cor e textura (Solomon *et al.*, 2014, citado por Arvaniti *et al.*, 2019, no ensaio descrito por Esteves *et al.* (2003), citado por Aloui *et al.* (2022), o queijo com extrato de figueira apresentava-se com uma consistência pouco quebradiça e com um sabor e cheiro de figo autênticos e apreciados no produto.

Em estudos realizados por Aloui *et al.* (2021), Desta *et al.* (2020) e Sbhata *et al.* (2020), onde foram utilizadas e preparadas as biomassas de folhas e caules de *Ficus palmata* FORSKÅL, as folhas e caules frescos de *Ficus carica* e os frutos verdes de *Ficus Johannis*, respetivamente (em maior detalhe na tabela 31 do **anexo III**), verificou-se que 2,5 g, 5 g e 7,5 g de folhas de biomassa de *Ficus palmata* são ineficazes para coagular quantidades de leite inferiores a 200 ml, no entanto, os 20% de extrato de fruto verde de *Ficus Johannis* parecem coagular o leite de forma bastante promissora.

3.3.4.1. Caraterização da figueira:

⁶ No geral, a temperatura alta do leite na coagulação é responsável por uma diminuição na viscosidade e taxa de firmeza de coalhada.

⁷ “*agugli*”, um delicioso queijo fresco macio produzido com leite de ovelha.

Sendo este queijo fresco um produto inovador, que integra o coalho extraído das folhas secas da figueira, é imperativo realizar uma caracterização desta planta, com vista a conhecer melhor as suas propriedades coagulantes e nutricionais. Esta planta encontra-se bastante presente nas zonas mediterrânicas, pelo que a utilização de coprodutos da mesma no fabrico de queijo fresco representa uma fonte de coalho sustentável.

A figueira (nome científico: *Ficus carica*) pertence à família *Moraceae* e engloba cerca de 1400 espécies (Solomon *et al.*, 2006, citado por Arvaniti *et al.* (2019)), sendo 700 do género *Ficus*, que se caracteriza por um peculiar sistema reprodutivo, que nos remonta ao Sudeste Asiático (Irão, Síria) e Região Mediterrânica (Aguiar, 2013, Agustí, 2004, citado por Afonso, 2019; Fu *et al.*, 2018).

Descrita como uma árvore caducifólia, é usada como planta ornamental, árvore de fruto ou destinada para fins culinários, espirituais e medicinais. Introduzida na Península Ibérica pelos árabes no século VIII d.C., (Hanif *et al.*, 2019), adapta-se melhor nas regiões tropicais e subtropicais da Ásia Ocidental. É mencionada no alcorão sagrado, mitologia grega e bíblia cristã (Flaishman *et al.*, 2008, citado por Bakhshi *et al.*, 2012) como um símbolo de poder e longevidade, no Médio Oriente e Mediterrâneo (Arvaniti *et al.*, 2019; Shanahan, 2017, citado por Afonso, 2019; Vidaud, 1997, citado por Afonso, 2019).

É uma das árvores de fruto mais rústicas e que melhor se adapta ao clima português⁸, devido aos verões quentes e secos (Franco, 2022; Harzallah *et al.*, 2016; citado por Arvaniti *et al.*, 2019, Meziant *et al.*, 2015; citado por Arvaniti *et al.*, 2019 e Solomon *et al.*, 2006, citado por Arvaniti *et al.*, 2019 e por Afonso, 2019). Contudo, a cultura da figueira no país tornou-se pouco rentável (Monteiro & Sousa, 2008, citado por Afonso, 2019; Sousa *et al.*, 2002, citado por Afonso, 2019), devido a fatores como a ineficiência do modo de plantação, técnicas culturais aplicadas, elevado custo de mão-de-obra, fraco investimento nesta cultura e a forte concorrência (Pereira *et al.*, 2017, citado por Afonso, 2019).

Considerado símbolo do Mediterrâneo e de Provença (Solomon *et al.* (2006), citado por Arvaniti *et al.* (2019)), a *Ficus carica de Marseille* caracteriza-se por ser uma espécie unífera (de colheita única), com tronco e galhos irregulares, folha alternada e

⁸ Antigamente, em Portugal, a sua cultura era realizada de forma extensiva e se concentrava em Moura, Mirandela, Torres Novas e nas regiões do Algarve.

perene, flor pequena, de cor verde-amarelada ou arroxeada e pequenos figos de cor verde-ouro (Hajam & Saleem, 2022).

A figueira é uma árvore com diferentes e diversas espécies existentes⁹, que pode ser destinada para ornamentação (*Ficus lyrata* e *Ficus repens / pumila*), para dar fruto (figueira-comum) ou aquelas que possuem capacidade de gerar atividade coagulante para o fabrico de produtos láteos, como a *Ficus carica* e a *Ficus palmata* (Duarte, 2022).

Enquanto isso, a *Ficus carica*¹⁰ (figueira-comum) e a *Ficus palmata* (muito comum na Etiópia, a sua utilização e cultivo), possuem subprodutos com características coagulantes que podem ser destinados à elaboração de queijos (Sbhatu *et al.*, 2020).

Os subprodutos da figueira caracterizam-se pela excelente gama de compostos antioxidantes naturais (flavonóides) e fenólicos, carotenóides, algumas propriedades (ex. anti-inflamatórias) e ácidos (linoleico, palmítico e oleico) (Akath *et al.*, 2015, citado por Hajam & Saleem, 2022; Hanif *et al.*, 2019).

Na última década, tem-se registado um grande aumento de estudos com interesse científico que se concentra nos subprodutos de figueira, destacando-se a folha como o elemento da figueira com maior poder antioxidante (segundo os autores referidos). Alguns extratos de subprodutos são eficazes no alívio dos sintomas da dermatite atópica, na manutenção do colesterol, aumentando a força do coração e controlando a respiração (Hajam & Saleem, 2022).

A figueira tem a capacidade de se adaptar a diferentes condições climáticas, mas é sensível à falta de humidade no solo (Aguiar, 2013). Também a sua produtividade pode ser influenciada pelas condições climáticas, idade, clima, tamanho e o tipo de figo (Condit, 1947, citado por Bakhshi *et al.*, 2012).

3.4. Segurança alimentar e controlo da qualidade nos produtos láteos:

3.4.1. Microrganismos patogénicos suscetíveis no leite:

As toxinfecções alimentares dependem de determinados fatores, desde a quantidade de microrganismos ingerida, a multiplicação no organismo, à quantidade da toxina no alimento. Contudo, a partir de testes realizados para determinar se o leite se

⁹ Existem outras variedades de figueira mencionadas na literatura como a *Ficus microcarpa* (*Ficus ginseng*), *Ficus Benghalensis* (figueira-da-índia), *Ficus elástica*, *Ficus benjamina*, *Ficus maclellandii* e a *Ficus deltoidea*.

¹⁰ Em Portugal, as variedades mais comuns são: “Bêbera Branca”, “Pingo-de-Mel”, “Bacorinho”, “Nossa Senhora” (Franco, 2022).

encontra apto para consumo, é possível averiguar se há presença de microrganismos patogénicos no leite e derivados láteos (Ray, 2004), como os indicados na tabela 6.

Tabela 6 Microrganismos patogénicos suscetíveis no leite e derivados láteos

Microrganismos	Condições ótimas de desenvolvimento dos microrganismos				Autor
	pH	a _w	Temperatura	O que indica / observações	
<i>Brucella</i> sp.	6,6 a 7,4	-----	37 °C	Contaminação proveniente de animais infetados	ICMSF (1996)
<i>E. coli</i>	> 5,5	> 0,95	35° a 40 °C	Contaminação fecal proveniente do Homem	Baptista & Venâncio (2003)
Enterobactérias	5,5 a 8	> 0,93	37° a 44 °C	Problemas na produção ao nível sanitário e de higiene	Baptista & Venâncio (2003)
<i>Listeria monocytogenes</i>	6 a 8	> 0,92	30° a 37 °C	Contaminação cruzada Pasteurização inadequada	Martin <i>et al.</i> (2010) citado por Fernandes (2015)
<i>Salmonella</i> spp.	6,5 a 7,5	> 0,93	35° a 37 °C	Contaminação cruzada Temperatura desajustada	Martin <i>et al.</i> (2010) citado por Fernandes (2015)
<i>Shigella</i> sp.	5 a 8	baixa	37 °C	Contaminação fecal	ICMSF (1996)
<i>Staphylococcus aureus</i> ¹¹	6 a 7	> 0,86	35° a 37 °C	Produz enterotoxina termorresistente a mais de 100 °C por 30 minutos	Baptista & Venâncio (2003)
<i>Yersinia</i> sp.	7 a 8	> 0,95	22° a 29 °C	Destruída pelo calor, porém tolera baixas temperaturas	Ray (2004)

3.4.2. Perigos e fontes de contaminação no queijo:

Tal como previsto no CA, a qualidade e segurança alimentar de um queijo pode estar comprometida devido à existência de perigos de origem física, química ou biológica, presente nos alimentos, que levam à rejeição do mesmo pelos efeitos adversos que podem causar à saúde do consumidor (Almeida *et al.*, 2005).

Os perigos biológicos são os que representam maior risco à inocuidade dos alimentos, onde se englobam bactérias, vírus, fungos (leveduras e bolores), parasitas e toxinas microbianas. Como exemplos, destaca-se a presença da toxina estafilocócica e da *Salmonella* sp. (Zhao, 2003).

Como principais fontes de contaminação dos alimentos, temos os manipuladores, a água, os animais, as plantas, o ar e o solo. A contaminação pode ser direta (se

¹¹ A contaminação de produtos alimentares está muito associada aos manipuladores, uma vez que a bactéria *Staphylococcus aureus* pode apresentar índices elevados, por exemplo, nas mucosas nasais e no couro cabeludo (Baptista & Saraiva, 2003)

proveniente diretamente do animal doente) ou indireta (se por via da água, solo ou poeiras) ou ainda cruzada (Alves, 2012).

Os laticínios são muito suscetíveis à contaminação e desenvolvimento microbiano devido às características da matéria-prima (Perry, 2004, citado por Fernandes, 2015). A higienização é determinante na prevenção da contaminação e o desenvolvimento de microrganismos no alimento depende de fatores intrínsecos (pH, tipo de alimento e a_w) e extrínsecos (temperatura e humidade relativa), que são características do ambiente (Alves *et al.*, 2012).

3.4.3. Controlo da qualidade em queijo fresco:

Segundo Santos (2015), o “controlo da qualidade” é uma ferramenta que nos ajuda a conhecer as características e a assegurar a qualidade do produto, com o objetivo de atribuir uma maior confiança ao consumidor, seja na expedição, durante o fabrico do queijo fresco, ou na criação de medidas que garantam a sua qualidade.

A qualidade do leite e do queijo pode ser analisada pelo aspeto higiénico referente ao manuseamento e a partir da composição físico-química que está interligada aos sólidos totais, lactose, gordura e proteína, onde ambos terão especial influência nas características e propriedades sensoriais e nutritivas (Brito & Brito, 2009).

Um correto, eficaz e eficiente controlo da qualidade deve ser rápido, pertinente, realizado com periodicidade e composto por uma multiplicidade de medidas, que será sempre apoiado pela elaboração de análises laboratoriais, que avaliam a qualidade organolética, físico-química e microbiológica do produto (Almeida *et al.*, 2005).

4. Caraterização física, química, microbiológica, nutricional e sensorial de produtos láteos como o queijo fresco:

É importante a realização de análises aos láteos, pois permitem avaliar a inocuidade sanitária, causa de problemas de saúde, higiene no transporte, armazenamento e fabrico do alimento, tempo de conservação, grau de frescura e alteração e a elaboração de acordo com especificações tecnológicas em vigor. Podem ser detetadas eventuais fraudes no leite, como a adição de água, o desnate, a adição de conservantes ou a adição de reconstituintes, para fazer aumentar o volume do leite (Abrantes *et al.*, 2014).

4.1. Avaliação física e química do leite:

Os leites de cabra, vaca e ovelha apresentam características físico-químicas muito idênticas, o que torna difícil a deteção da sua mistura por testes tradicionais de rotina. Para garantir que não haja o uso indevido de antibióticos ou eventuais fraudes, realizam-se testes específicos que permitem este controlo (Veloso *et al.*, 2002, citado por Veiga, 2012), nomeadamente:

- Agentes inibidores do crescimento microbiano (Goettems *et al.*, 2016);
- Determinação de EST, a partir do método de Ackermann, por gravimetria ou a partir do uso de tabelas e fórmulas (Goettems *et al.*, 2016);
- Determinação do teor de gordura, recorrendo ao método butirométrico ou a métodos automáticos (Gomes, 1997);
- Índice Crioscópico (Goettems *et al.*, 2016);
- Teste da densidade: Relação entre a sua massa e o volume, medida a 20 °C, com padrões normais entre 1,028 e 1,034 g/cm³ (Goettems *et al.*, 2016);
- Teste fosfatase alcalina e peroxidase (Goettems *et al.*, 2016);
- Verificação da Temperatura.

Por conseguinte, existem outras análises a que o leite pode ser sujeito antes de ser destinado ao processamento das etapas de fabrico do queijo fresco (Martins, 2012):

- pH medido a 20 °C, com recurso a um potenciómetro pH (pHmetro), munido de um eléctrodo de penetração;
- Acidez entre os 16°-20°T¹², medida segundo a NP 470-1983;
- Resíduo seco e resíduo seco isento de gordura calculados segundo a NP 475-1983;
- Matéria gorda medida de acordo com a NP 469-1983;
- Densidade calculada de acordo com a NP 474-1983;
- Azoto total e proteína bruta medidos segundo a NP 1986-1991.

O conhecimento da acidez titulável é necessário à prática industrial, para avaliação da frescura do leite e controlo das fases de fabrico do queijo. O seu aumento após a ordenha deve-se à transformação da lactose em ácido láctico. A acidez natural do leite deve-se à sua composição em fosfatos ácidos e substâncias proteicas (Arcuri *et al.*, 2021).

4.2. Microbiologia do queijo fresco:

¹² Valores inferiores a este podem indicar fraudes, má conservação do produto, má higiene por parte do manipulador de alimentos, aproximação do final da lactação e a existência de lesões na glândula mamária.

Os critérios microbiológicos definem a aceitabilidade de um produto ou lote alimentar, baseado na ausência, presença ou número de microrganismos, incluindo parasitas e/ou quantidade de toxinas, por unidade de massa, volume, área, lote (HPA, 2009).

Algumas das enterobactérias pertencem ao microbiota intestinal dos humanos e animais, como a *E.coli*, a *Salmonella* spp. e a *Yersinia* spp. Os coliformes totais e fecais são considerados os indicadores de contaminação fecal usados no controlo da qualidade de alimentos (Bonassi, 1984, citado por Veiga, 2012; Frezier & Westhoff, 1993, citado por Veiga, 2012).

As enterobactérias e os aeróbios totais a 30 °C refletem a qualidade higiénica do produto analisado e a forma como o mesmo foi manipulado durante a sua preparação. Estes parâmetros podem ser usados para verificar a aplicação de boas práticas de fabrico e determinar a aceitabilidade organolética (Downes & Ito, 2001). Esta qualidade é influenciada por fatores relacionados com as condições de produção do leite, higiene da ordenha, conservação do leite, e a laboração do queijo fresco (Geurts *et al.*, 2001, citado por Fernandes, 2015).

Uma contagem elevada deste microrganismo pode ser um indicador de que não é feita a higienização suficiente (ou é realizada de forma incorreta) ou um problema ao nível do controlo dos processos de fabrico / das matérias-primas (Downes & Ito, 2001).

O regulamento (CE) n.º 1441/2007 da Comissão, de 5 de dezembro, que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005 da Comissão, de 15 de novembro, indica os critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios, incluindo os queijos frescos. Após o fabrico dos queijos, devem ser executadas análises microbiológicas, com vista a quantificar ou determinar a presença de um microrganismo (patogénico ou não). De acordo com os autores, mencionam-se as pesquisas e/ou determinações mais comuns:

- Género *Lactobacillus* tem um alto nível de biodiversidade, apresentam-se mais tolerantes à acidez, o que permite concluir a sua fermentação no produto. Responsáveis pela produção de ácido láctico (Axelsson, 2004; Lacasse, 2000, citado por Serol, 2017);
- *Streptococcus thermophilus* interligam-se com a rápida conversão de lactose em ácido láctico, o que origina a rápida redução do pH e a produção de metabolitos com propriedades tecnológicas importantes;

- Bolores e leveduras atuam em condições de baixos níveis de humidade, pH e temperatura e de altas concentrações de sal (Bellocha *et al.*, 2014);
- Algumas enterobactérias estão presentes na microbiota intestinal dos humanos e animais, nomeadamente a *Escherichia coli* (Lacasse, 2000, citado por Serol, 2017; Forsythe, 2000, citado por Cunha, 2017);
- *Salmonella* spp. também pode ser descrita como um indicador de contaminação fecal, presente nos láteos (Baptista & Venâncio, 2003).
- *Lactococos* spp. são predominantes em queijo fresco (Bruno *et al.*, 2009);

A microbiota natural do leite, apesar de poder conter inadvertidamente microrganismos indesejáveis do ponto de vista de segurança microbiológica, é fonte de bactérias ácido-lácticas (contribuem para o desenvolvimento das características sensoriais desejáveis do produto), com papel benéfico, compreendido por lactobacilos, lactococos e estreptococos.

As bactérias Gram negativas do género *Pseudomonas* ou *Enterobacteriaceae* estão identificadas como causadoras de alterações do leite devido à sua actividade lipolítica e proteolítica. Estas contagens podem aumentar mais de 3 log ufc/ml após o armazenamento do leite por 3 dias a 8 °C ou por 7 dias a 4 °C, alterando totalmente o equilíbrio da flora natural do leite (Berthier *et al.*, 2014).

O crescimento microbiano é muito complexo e diversificado, pelo que é essencial identificar os perigos microbiológicos relativamente a cada tipo de produto (Dias, 2020). No Regulamento (CE) n.º 1441/2007 da Comissão, de 05 de dezembro, *enterotoxinas estafilocócicas*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp., estão indicados como critérios de segurança dos géneros alimentares, incluindo os queijos frescos.

A *Listeria monocytogenes* é uma das grandes preocupações da indústria queijeira devido à sua tolerância a temperaturas baixas, à elevada resistência a ambientes ácidos e com altos teores de cloreto de sódio e à capacidade de sobreviver por longos períodos em condições adversas (Martin *et al.*, 2010, citado por Fernandes, 2015).

A pesquisa de *Staphylococcus aureus* é um dos parâmetros a ter em conta na avaliação do queijo fresco segundo o regulamento citado. A contaminação dos alimentos ocorre devido à inadequada manipulação destes, más práticas de higiene e más condições sanitárias (Lacasse, 1995). Os principais veículos de contaminação cruzada dos alimentos por esta espécie bacteriana são as narinas e as mãos do homem (Dias-Pereira *et al.*, 2000).

Os *Staphylococcus aureus* são anaeróbios facultativos, mas crescem melhor em meio aeróbico e apresentam coagulase (Pelczar *et al.*, 1997, citado por Cunha, 2017; Sneath *et al.*, 1997, citado por Cunha, 2017). Quando em condições favoráveis, produzem uma enterotoxina termorresistente responsável pela intoxicação alimentar no homem: a intoxicação estafilocócica (Forsythe, 2000, citado por Cunha, 2017).

Assim, a avaliação microbiológica aos manipuladores e locais de processamento, é essencial devido a fontes de contaminação. Nesta vertente, muitas das análises baseiam-se na quantificação de grupos microbianos indicadores ou na pesquisa de microrganismos específicos, sendo necessário recorrer-se a meios de cultura (Camacho, 2017).

4.3. Avaliação física e química do queijo fresco:

A composição físico-química do queijo está dependente da qualidade da matéria-prima, dos coadjuvantes usados e do processo tecnológico de fabrico (Veiga, 2012). Os parâmetros desta caracterização, baseiam-se na determinação da acidez, gordura, textura, proteína, EST, humidade, pH, a_w e cinzas (Gomes, 1997).

A gordura encontra-se no queijo sob a forma de glóbulos gordos, com dimensões grandes relativamente às micelas, que ficam retidas durante a coalhada, que ocorre na coagulação (Canada, 2001). Segundo a NP 2105-1983, quando se conhece atempadamente o teor de humidade, a gordura permite-nos classificar os queijos quanto ao teor de matéria gorda (determinada em função da gordura referente ao extrato seco).

Apesar dos inconvenientes, o processo corrente (Técnica de Van Gulik) apresenta-se como melhor método, já que o ponto de referência (Técnica de Schmid) torna-se de baixo interesse e impraticável. A tabela 7 indica-nos a classificação de queijo fresco quanto à matéria gorda (NP 2105-1983).

Tabela 7 Classificação quanto à GES

Extragordo / Muito Gordo	> 60%
Gordo	> 45% e < 60%
Meio Gordo	> 25% e < 45%
Pouco Gordo	> 10% e < 25%
Magro	< 10%

A atividade da água (a_w) é descrita como o parâmetro que indica o teor de água livre para o crescimento microbiano, cujos valores variam entre 0 e 1 (água pura). É

considerado um fator de segurança essencial, pois quanto menor for a a_w , maior será a segurança e estabilidade microbiológica do produto (Serol, 2017).

O leite apresenta um elevado teor de água na sua composição (88%), o que contribui para que o mesmo seja um meio ótimo para o crescimento de microrganismos. A capacidade de sobrevivência ou multiplicação em meios com baixa a_w varia consoante os microrganismos (Serol, 2017). Na tabela 8, estão ilustrados os valores mínimos da a_w para os patogénicos se multiplicarem (Alvarenga, 2008, citado por Serol, 2017).

Tabela 8 Valores mínimos de a_w para multiplicação de diferentes microrganismos patogénicos

Microrganismos patogénicos	Atividade da água (a_w)
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,92
<i>Salmonella</i> spp.	0,95
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,86
<i>Yersinia enterocolítica</i>	0,95
<i>Escherichia coli</i>	0,95

Os queijos com maior a_w indicam uma maior tendência para se deteriorarem, uma vez que são um meio de cultivo mais favorável para os microrganismos. Esta vai diminuindo em queijos com a_w mais baixa (pasta mole 0.95 e pasta dura 0,85). Este é um fator que reforça a proteção do produto contra a presença de patogénicos (Serol, 2017).

A humidade final da maioria dos queijos é condicionada pela taxa / duração da sinérese e pela compactação da estrutura de caseína. Após a coagulação, o processo da moldagem é acompanhado por uma redução de pH, que origina uma perda razoável de humidade, através da remoção do soro (Serol, 2017).

Quando se conhece o teor de gordura, a determinação da humidade permite-nos, classificar os queijos quanto à sua consistência, tal como ilustrada na tabela 9, percebendo a diferença entre um queijo extraduro e um de pasta mole (NP 1598-1983).

Tabela 9 Classificação do queijo quanto ao teor de HIG

Queijo extraduro	< 51% HIG
Queijo de pasta dura	49% e < 56% HIG
Queijo de pasta semidura	54% e < 63% HIG
Queijo de pasta semi-mole	61% e < 69% HIG
Queijo de pasta mole	67% HIG

A proteína é constituída por proteínas solúveis (albuminas e globulinas) e insolúveis. A caseína, durante a coagulação, é incorporada na coalhada e o estudo da proteólise envolve a determinação de frações azotadas (Serol, 1997).

Para a determinação do azoto total e da proteína bruta, aplica-se o procedimento do AOAC Method 991.20, com o método de Kjeldahl, tendo a determinação de forma indireta da avaliação ao teor em azoto total presente na amostra (Costa, 2021). No final, conseguiu-se observar os valores de proteína em matéria verde e em matéria seca.

Figueiredo (2010) descreve as cinzas como o resíduo obtido pela incineração de um produto após a queima da matéria orgânica, que se transforma em dióxido de carbono, água e óxido nítrico. Por norma, utiliza-se um cadinho para colocar a amostra, que depois será seca e, no final, resulta num pó.

O teor de cinza na massa do queijo depende sempre dos sais minerais existentes no leite (Gomes, 1997), no entanto, costuma apresentar cálcio, sódio, magnésio e potássio (Cecchi, 2001, citado por Santiago, 2017). A temperatura obtida afeta os resultados, uma vez que temperaturas muito baixas dificultam a calcinação da amostra e muito altas provocam decomposição e perda de alguns minerais (Figueiredo, 2010).

O pH é um logaritmo do inverso da concentração hidrogeniônica e que pode ser determinado recorrendo a um simples potenciómetro de bolso ou um que seja munido de eletrodo com perfuração para a amostra de queijo (Gomes, 1997).

A redução do pH do queijo, para valores entre 4,5 e 5,5, contribui para a prevenção do crescimento de bactérias patogénicas e da maioria dos microrganismos implicados na deterioração do queijo (Brito *et al.*, 2005, citado por Figueiredo, 2001). De referir que a determinação de pH não substitui a prova para se descobrir o valor de acidez presente nos queijos.

Na técnica usada, verifica-se que, nos potenciómetros equipados com um único eletrodo, a operação é bastante simples (Gomes, 1997). A acidificação em queijos frescos ocorre geralmente pela fermentação da lactose pelas culturas bacterianas presentes no fermento láctico, que vão produzir o ácido láctico (Serol, 2017).

A acidez é um dos parâmetros mais críticos no que diz respeito à segurança alimentar e ao Controlo da qualidade do processo de fabrico do queijo. O leite apresenta

de acidez titulável um valor menor de 21°T (torner), o que significa que, em termos de acidez, é um meio adequado ao crescimento da maioria das bactérias (Santos, 2015).

A acidez titulável pode ser determinada em graus Dornic (leite) e em porcentagem de ácido láctico (queijos), onde 1°D corresponde a 0,1 g de ácido láctico por litro de leite. A fermentação natural do leite cru, por ação das bactérias lácticas, conduz à redução significativa do pH, cuja diminuição depende do tipo de bactérias lácticas envolvidas e da tecnologia de produção (Arcuri *et al.*, 2021).

4.4. Reologia e propriedades texturais do queijo fresco:

De acordo com a Internacional Organization for Standardization (ISO 11036-2020), a textura descreve-se como um conjunto de propriedades mecânicas, geométricas e de superfície de um produto, detetáveis pelos recetores mecânicos táteis e pelos recetores visuais e auditivos. A questão visual tem uma vital influência na textura, bem como a aceitabilidade do produto pelo consumidor, já que desempenha um papel importante nas decisões de compra e consumo (Ak & Gunasekaran, 2002).

Para ter a caracterização de um alimento sob ponto de vista reológico e estudar o seu comportamento na deformação / escoamento, podem ser feitos testes imitativos (reprodução em pequena escala, como o teste de perfil de textura), testes empíricos (fácil execução, aplicado num contexto específico) ou testes fundamentais (difícil compreensão do comportamento do material) (Kraggerud *et al.*, 2012, citado por Bandeira, 2010; Szczesniak, 2002, citado por Bandeira, 2010).

A avaliação da textura envolve a medição da resposta de um alimento quando ele é submetido a forças de corte, mastigação, compressão ou alongamento. A textura de um alimento depende das propriedades reológicas do alimento, visto que é necessário exercer uma força sobre o alimento, para perceber se este é duro, espesso ou quebradiço (Ak & Gunasekaran, 2002; Alvarenga, 2000, citado por Moreira, 2019).

A determinação instrumental da textura baseia-se na resposta do material ao contacto de uma sonda que o deforma. O grau de deformação e / ou resistência oferecida é registada sendo usada como índice de textura do alimento. Para esta avaliação, recorre-se à utilização de um texturómetro (Bandeira, 2010).

A textura do queijo depende da composição química e da força das interações entre os elementos estruturais que compõem a sua micro e macroestrutura e, ao aplicar o

método Texture Profile Analysis (TPA), obtém-se a dureza, mastigabilidade, elasticidade, gomosidade, coesividade e a adesividade (Moreira, 2019).

Através da análise do teste TPA, pode-se observar as zonas de compressão e retração da primeira e segunda dentada, a adesividade (que representa a força necessária para a saída da sonda do material em teste) e a fraturabilidade da amostra (Martins, 2012).

Os picos da primeira e segunda compressão correspondem à força máxima necessária para a penetração do material. A mastigabilidade é o tempo que leva a mastigar a amostra ao ponto de deglutição enquanto a gomosidade é o esforço para desintegrar a amostra até esta ser engolida (Ak & Gunasekaran, 2002).

4.5. Parâmetros da cor do queijo fresco:

A cor é descrita como um simples fenômeno físico-óptico que os objetos coloridos ou a luz com certas características, produzem num observador, pois a cor deve-se à absorção seletiva das radiações visíveis que incidem sobre ela (Serol, 2017). Segundo Moreira (2011), a cor é a interpretação que o sistema sensorial e o cérebro atribuem aos diferentes comprimentos de onda da luz recebida (interação da luz com os alimentos).

A medida da cor de um alimento pode ser feita de forma objetiva (medições instrumentais) ou subjetiva (medições subjetivas), mediante a utilização de instrumentos de medição, como os espectrofotômetros e os colorímetros, que conseguem medir a luz refletida dos objetos em faixas específicas e em comprimentos de onda e quantificam os dados espectrais para determinar coordenadas no espaço de cor $L^*a^*b^*$ (Serol, 2017).

A colorimetria é designada como a ciência usada para quantificar e descrever fisicamente a percepção da cor pelo olho humano, usando sistemas de notação de cor como o Commission Internationale de l'Eclairage (Alvarenga, 2008, citado por Serol, 2017).

Um espaço de cor é um método para se expressar a cor de um objeto ao usar algum tipo de notação. Existem vários modelos de cor, sendo o espaço CIE XYZ usado como padrão. Como referência, usa três cores primárias no espaço de cor universal, sendo X e Z a cromaticidade (saturação e tom) e Y a luminosidade (Serol, 2017).

Apesar do modelo padrão, o modelo de cor CIE é o mais utilizado nas análises a queijos frescos, pelo que a sua implementação foi requerida, tendo por base o espaço de

cor L*a*b* (espaço de cor CIELAB), como o mais popular dos espaços de cores uniformes indicados para avaliar as cores (Konica Minolta, 2006).

Assim, consegue-se correlacionar de forma consistente os valores de cor com a percepção visual, identificando, avaliando e comunicando os atributos da cor além das inconsistências ou desvios de uma cor padrão. Quando as cores são ordenadas, podem ser expressas em termos de tonalidade, luminosidade e saturação, nomeadamente (Andrade *et al.*, 2007, citado por Alves *et al.*, 2019; Konica Minolta, 2006):

- L: indica a luminosidade / brilho, que pode variar entre 0 (preto) e 100 (branco);
- a*: coordenada cromática e representa a tonalidade verde (-60) e vermelho (+60);
- b*: coordenada cromática que representa a tonalidade amarelo (+60) e azul (-60);

Existem outros modelos de cor referidos pelos autores, nomeadamente o modelo de cor CMYK, o modelo de cor RGB (red green blue), o modelo de cor CIELAB e o sistema de Munsell (Alvarenga, 2008, citado por Serol, 2017; Corel, 2012).

Se a cor do produto não atender as especificações do padrão, a satisfação do cliente pode ficar comprometida, a quantidade diminuir e os custos aumentarem. Por essa razão, é importante saber identificar as diferenças entre uma amostra padrão e a amostra do produto, antes de se iniciar uma produção em grande escala (Konica Minolta, 2006).

4.6. Avaliação sensorial dos alimentos (como o queijo fresco):

Segundo a ISO 11035:1994, a análise sensorial caracteriza-se por ser uma análise realizada aos alimentos e a outros materiais, tendo por base os atributos do produto percebidos pelos sentidos (visão, tato, audição, paladar e o olfato).

Esta técnica visa determinar as propriedades organoléticas e sensoriais dos alimentos, tendo influência sobre os recetores sensoriais cefálicos antes e após a sua ingestão e a investigação das preferências pelos alimentos determinadas pelas suas propriedades sensoriais (Canada, 2001).

Existem várias aplicações deste formato de análises, nomeadamente a análise e desenvolvimento de (novos) produtos, testes de tempo de vida útil de produtos, controlo da qualidade da matéria-prima / produto final, testes de mercado, investigação psicofísica, pesquisa de necessidades e procura no mercado e aceitabilidade do produto pelo consumidor (Almeida *et al.*, 2005; Carmo, 2018).

A análise sensorial permite descrever e caracterizar atributos sensoriais de um alimento, medir a sua intensidade (Alarcon, 2005, citado por Carmo, 2018; Naes *et al.*, 2010, citado por Carmo, 2018), avaliar a preferência hedónica de um alimento em termos de aceitabilidade e se gosta ou não gosta (Meilgaard *et al.*, 2007, citado por Carmo, 2018), determinar diferenças e se as mesmas são detetadas e aceites ou não pelo provador e discriminar o alimento, com o objetivo de se alcançar um atributo específico (Pontes, 2008, citado por Carmo, 2018; Silva, 2015).

É recomendável fazer uma avaliação aos provadores, para verificar aspetos como a disponibilidade, vontade, saúde, interesse pela prova, motivação, conhecimento, carácter e personalidade, erros psicológicos, capacidade de comunicação e de adaptação, atitudes em relação aos alimentos e treino na realização de provas sensoriais, visto que todos estes elementos podem influenciar a perceção sensorial (Carmo, 2018).

Além desta avaliação, é essencial o cumprimento de algumas regras, como o não fumar, beber ou comer 1 h antes da sessão, não utilizar perfumes fortes, aftershave ou batons, manter o silêncio, a calma e a concentração na sala de prova, ser objetivo, não chegar apressado, e não se limitar a gostos pessoais (gosto / não gosto) (Noronha, 2003).

A realização de uma prova sensorial requer uma metodologia com base na criação de um questionário com perguntas claras, objetivas e pertinentes, ordenando os produtos por ordem de grau de dureza e no final deve-se realizar o registo e a respetiva discussão dos resultados (Noronha, 2003). Os ensaios sensoriais devem ser conduzidos num local apropriado, especialmente construído ou adaptado para o efeito.

A sala da prova sensorial e a zona de preparação das amostras possuem uma série de características que estão estipuladas na NP 4258-1993, onde se verifica que o mesmo deve possuir material de limpeza, superfície de trabalho, equipamento para a preparação e apresentação das amostras (louça, recipientes e balança), eletrodomésticos para a conservação, preparação e controlo das amostras (fogão, forno, frigorífico, estufa, arca congeladora, microondas) e armários.

A título de exemplo, uma ordem incorreta de apresentação das amostras pode gerar e induzir alguns danos colaterais, como o efeito de contraste, efeito de grupo, erro de tendência central, erro temporal / tendência posicional e padrões. Como tipo de provas, enumeram-se as provas discriminativas, descritivas e hedónicas (Noronha, 2003).

5. Material e Métodos:

Segundo estudos anteriormente descritos por Ajmal *et al.*, 2016, citado por Arvaniti *et al.*, 2019, Alasalvar *et al.*, 2016, citado por Arvaniti *et al.*, 2019, Ammar *et al.*, 2015, citado por Albuquerque *et al.*, 2022, Bachir Bey *et al.*, 2013, citado por Arvaniti *et al.*, 2019, Barolo *et al.*, 2014, citado por Arvaniti *et al.*, 2019, Gharras, 2009, citado por Arvaniti *et al.*, 2019, Hanif *et al.*, 2019, Harzallah *et al.*, 2016, citado por Arvaniti *et al.*, 2019, Kamiloglu *et al.*, 2013, citado por Arvaniti *et al.*, 2019, Mawa *et al.*, 2013, citado por Afonso, 2019; Raafat & Wurglics, 2019, citado por Albuquerque *et al.*, 2022; Solomon *et al.*, 2006, citado por Arvaniti *et al.*, 2019 e por Afonso, 2019, e Soni *et al.*, 2014, citado por Afonso, 2019, a figueira possui excelentes características coagulantes.

As propriedades coagulantes dos subprodutos da figueira sugerem o seu potencial de valorização no fabrico de queijo, que permitiu avaliar a atividade coagulante das folhas de figueira, testar diferentes quantidades de extrato e determinar tempos de coagulação, otimizando o processo de extração para maior atividade coagulante.

Com a caracterização da figueira estabelecida, avançou-se para análises de pH e de textura. Foi também elaborado um queijo fresco com o coagulante normalmente utilizado, a quimosina, com a adição de cloreto de cálcio e de cloreto de sódio, o qual funcionou como “controlo”.

5.1. Testes-piloto realizados aos extratos de figueira:

Efetuarão-se testes-piloto aos vários extratos de figueira, com vista a definir a sua caracterização e condições de coagulação e utilização. Após a realização de ensaios para a determinação do melhor extrato a replicar em queijos frescos, foram estudadas novas formas de se reutilizar o extrato.

5.1.1. Avaliação de atividade coagulante em extratos de figueira:

Com vista a desenvolver estudos preliminares às folhas frescas da figueira (*Ficus carica de Marseille*), a Quinta da Mó, nos Açores, realizou o seu tratamento, o qual se iniciou pela higienização das folhas, passando por um corte mecânico, uma desidratação a 40 °C por 48 h e, por fim, uma moagem. A atividade coagulante das folhas, os métodos de extração, o tempo de coagulação e a preparação dos extratos destacam-se como os objetivos principais deste primeiro ensaio.

Para comparação com biomassa fresca, as folhas e galhos frescos de *Ficus carica* foram submetidos a um tratamento de higienização, corte manual, moagem, com auxílio de um moedor. O produto resultante deste processo foi sujeito a duas condições de extração diferentes.

O processo de extração foi efetuado com base no trabalho de Afsharnezhad *et al.* (2018), Desta *et al.* (2020), Faccia *et al.* (2019), citado por Aloui *et al.* (2021), Feigenbaum & Netzer (1967) e Sbhatu *et al.* (2020). Assim, uma extração foi realizada à temperatura de refrigeração (4 °C) por 24 h e a outra à temperatura ambiente por 1 h.

5.1.2. Preparação do material – folhas de figueira – utilizado para a obtenção dos extratos:

O material usado neste estudo foi constituído por folhas e galhos da figueira, mais concretamente da *Ficus carica de Marseille*, fornecido pela Quinta da Mó (Açores), já devidamente sujeito a tratamentos de higienização, desidratação a 40 °C por 48 h e moagem até pulverizar. Este material foi armazenado em local seco à temperatura ambiente e transportado nas mesmas condições. Para as folhas (secas e frescas) e galhos frescos, foi aplicado o procedimento ilustrado na figura 7.

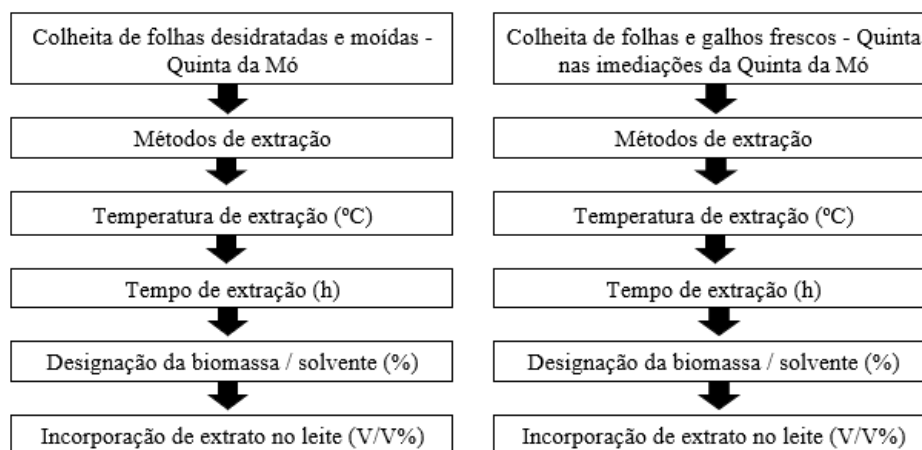


Figura 7 Diagrama do procedimento aplicado às folhas e galhos da *Ficus carica de Marseille*

5.1.3. Métodos aplicados com subprodutos de figueira:

A partir de estudos anteriormente realizados e com o contributo de Afsharnezhad *et al.* (2018), Aloui *et al.* (2021), Desta *et al.* (2020), Faccia *et al.* (2019), citado por Aloui *et al.* (2022), Feigenbaum & Netzer (1967) e Sbhatu *et al.* (2020), foi possível recolher diversos métodos de extração em diferentes condições, verificar a sua atividade coagulante e testar a adição de diferentes concentrações no leite.

- Aloui *et al.* (2021) referiram a utilização de galhos, folhas e de caules frescos de *Ficus carica*, cortados em pequenos pedaços e esmagados mecanicamente, onde os galhos permaneceram no seu estado fresco, as folhas foram armazenadas a 4 °C por 12 meses e os caules liofilizados e armazenados a 4 °C por 12 meses;
- Aquilanti *et al.* (2022) estudaram o desempenho de extratos de cardo em substrato de leite cru de ovelha e cabra, testando as temperaturas de 35, 40 e 45 °C e com concentrações de cálcio de 5, 10 e 15 mM. O leite foi desnatado por centrifugação (5000 g, 35 °C, 10 minutos) e liofilizado, redissolvido em soluções tampão (pH 5, 5,5 e 6) e integrado 500 µl de extrato de *O. Tauricum*;
- Desta *et al.* (2020) mencionaram frutos de *Ficus carica*, desidratados em estufa a 40°C, pulverizados em pó e armazenados à temperatura ambiente. Foi extraído 10 g da amostra em pó em 200 ml de água destilada, filtrado, precipitado com sulfato de amónio a 80% saturação (p/v), permanecendo em gelo 30 minutos e depois foi dissolvido com tampão fosfato (0,02 M). No final, a formulação referida foi 2 ml de extrato para 10 ml de leite, a coagular a 37 °C em banho-maria;
- Feigenbaum & Netzer (1967) utilizaram flores de *Cynara scolimus*, indicando concentrações de extrato de 0,1%, 0,25%, 0,5% e 1% em água destilada, tendo coagulado em leite nas concentrações de 1:3 (1 ml de coalho para 3 ml de leite). A temperatura de coagulação selecionada foi os 34 °C;
- Kumar & Sasmal (2020) testaram coagulação de 10 ml de leite desnatado (como substrato) com 1 ml de extrato de sementes de abóbora (maduras) moídas, ao qual adicionaram uma concentração de CaCl₂ (0,01 M), permanecendo a coagular a 54 °C. As folhas foram moídas e impregnadas em tampão acetato 0,01 M (pH 4,5) por 48 h a -20 °C, filtradas com um pano, centrifugadas a 3795 rotações por 20 min e armazenadas a 4 °C;
- Sbhatu *et al.* (2020) testaram as cascas (secas em forno a 45 °C por 24 h e moídas em pó) e a biomassa da folha (seca à temperatura ambiente por 4 dias e moída em pó) da figueira *Ficus palmata*, incorporando de ½ a 2 colheres de chá de pó de coalho para quantidades de 50-500 ml de leite de vaca fresco;

5.1.4. Caraterização do coagulante de figueira:

Os testes efetuados e descritos nas tabelas 10 e 11, refletem a progressão dos estudos aplicados às folhas e galhos frescos e às folhas desidratadas e moídas, bem como as condições, formas e métodos de extração deste coagulante, em função dos resultados previstos, ou que se iam obtendo.

Tabela 10 Caracterização coagulante da figueira (1)

Biomassa	Métodos extração	Temperatura extração (°C)	Tempo de extração (h)	Biomassa / solvente (% m/v)	Temperatura coagulação (°C)	Incorporação de extrato no leite (V/V%)	
Folhas secas	Ext.1	4	24	5	40	10	
						20	
						30	
				10		10	
						20	
						30	
				15		10	
						20	
						30	
				20		10	
						20	
						30	
	25	10					
		20					
		30					
	30	10					
		20					
		30					
	Ext.2	20	0,5	0,5	5	40	10
							20
							30
					10		10
							20
							30
15					10		
					20		
					30		
20					10		
					20		
					30		
25	10						
	20						
	30						
30	10						
	20						
	30						

Tabela 11 Caracterização coagulante da figueira (2)

Biomassa	Métodos extração	Temperatura extração (°C)	Tempo de extração (h)	Biomassa / solvente (% m/v)	Temperatura coagulação (°C)		Incorporação de extrato no leite (V/V%)	
Folhas secas	Ext.3	-20	48	5	40		10	
							20	
							30	
				10			10	
							20	
							30	
				15			10	
							20	
							30	
				20			10	
							20	
							30	
				25			10	
							20	
							30	
30	10							
	20							
	30							
Folhas frescas	Ext.4	4	24	5	32	40	10	
							20	
							30	
				10			10	
							20	
							30	
	15	10						
		20						
		30						
	Ext.5	20	1	5	32	40	10	
							20	
							30	
				10			10	
							20	
							30	
15				10				
				20				
				30				
Galhos frescos	Ext.6	4	24	5	32	40	10	
							20	
							30	
				10			10	
							20	
							30	
				15			10	
							20	
							30	
	Ext.7	20	1	1	5	32	40	Não aplicável
					10			
					15			

Depois de um período de “maceração” nas condições indicadas, todos os métodos de extração (com exceção do ext.7), foram sujeitos a um processo de filtração manual com recurso a gaze esterilizada, para remoção da biomassa remanescente. Conforme descrito nas tabelas 10 e 11, foi avaliada a razão biomassa / solvente, segundo a equação:

$$\% \cdot m / \cdot v = \frac{(\%) \text{ Biomassa}}{\text{Solvente}}$$

No final, os extratos foram armazenados à temperatura ambiente, em refrigeração ou em congelação. A hipótese de usar “liofilização” e a temperatura a 50 °C (Aloui *et al.*, 2021; Desta *et al.*, 2020; Kumar & Sasmal, 2020; Sbhatu *et al.*, 2020), foi descartada, já que o cloreto de cálcio se inativa a temperaturas ≥ 50 °C (Gomes, 2021) e a liofilização seria um processo moroso e de difícil execução.

5.1.5. Avaliação da funcionalidade coagulante:

Para avaliação da atividade coagulante, foi medido o tempo de coagulação a 40 °C com base no método descrito por Aloui *et al.* (2021) e Aquilanti *et al.* (2022). Como substrato, foi utilizado leite em pó comercial “Molico” reconstituído em água destilada consoante instrução da embalagem (11% de leite em pó), com 10-30% de extratos de folhas de figueira, 0,07% de cloreto de cálcio e 0,5-1% de cloreto de sódio.

5.1.6. Procedimento de extração e coagulação com biomassa fresca:

Para as testagens realizadas, foi necessário pesar as folhas e galhos com auxílio de uma colher, numa balança de precisão, bem como a água destilada e colocou-se o material em copos de precipitação de 100 ml, aplicando-se de seguida o respetivo método de extração associado à condição de extração.

Após submeter o ext.3 à congelação, para o manusear, o mesmo foi retirado do congelador 2-3 h antes de se proceder à sua extração. Realizou-se o processo de filtração, através de gaze esterilizada e o extrato líquido foi depositado em copos de precipitação de 50 ml. Os extratos líquidos (ext.1 e ext.3) foram armazenados em tubos de fálcon.

Procedeu-se à pesagem dos coadjuvantes, em placas de Petri separados e colocou-se 250 ml de leite em copos de precipitação de 250 ml, incorporando os coadjuvantes (cloreto de cálcio, cloreto de sódio e leite em pó) para posterior coagulação a 32 °C (folhas e galhos frescos) e a 40 °C (folhas moídas) em banho-térmico com agitação.

Neste primeiro ensaio, foi realizada a preparação das folhas (frescas e moídas) e dos galhos (frescos) em triplicado, mediante as condições e métodos de extração escolhidas, seguindo-se a filtração manual através de gaze. Após concluir a sua testagem, foi descartada a continuação de analisar a capacidade coagulante das folhas e galhos frescos, por ser moroso, pouco preciso / eficaz, baixa capacidade coagulante, longos períodos de coagulação e altos custos de produção.

5.1.7. Formulações de coadjuvantes:

Tal como previsto na tabela 12, determinou-se a formulação mais adequada dos coadjuvantes, nomeadamente a razão leite em pó diluído em água destilada, o cloreto de cálcio, o cloreto de sódio e a percentagem de incorporação de extrato no leite, realizada em triplicado, para a sua coagulação a 40 °C em banho-térmico.

Tabela 12 Formulação de coadjuvantes na coagulação de leite

	Leite em pó / solvente (%)	Cloreto cálcio (% v/v)	Cloreto sódio (% m/v)	Extrato (% v/v)
Ext.1	11	0,02	0,5	10
				20
				30
Ext.2	11	0,02	0,5	10
				20
				30
Ext.3	11	0,02	0,5	10
				20
				30

5.2. Ensaio de produção do queijo com o extrato de figueira, e validação das condições determinadas *in vitro*:

Os estudos preliminares *in vitro* realizados no LTA, permitiram seleccionar a biomassa desidratada como matéria-prima com maior potencial coagulante pelo que foi com estes extratos que se efetuaram os ensaios de validação em leite fresco e respetiva produção de queijo, na OTL.

Mediante os estudos preliminares *in vitro* anteriormente descritos por Aloui *et al.* (2021), Aquilanti *et al.* (2022), Desta *et al.* (2020), Feigenbaum & Netzer (1967), Kumar & Sasmal (2020) e Sbhatu *et al.* (2020), procedeu-se à validação dos resultados, utilizando agora leite de vaca fresco e pasteurizado.

O leite utilizado foi proveniente de uma empresa fornecedora da ESAC, sujeito a análises prévias e caracterizado em termos de pH, acidez, proteína, gordura, lactose, teor de água, sólidos não gordos e densidade, recorrendo ao analisador LACTOSCAN SP ultrasonic milk analyzer.

Numa primeira fase realizaram-se testes em que se procurou determinar quais as quantidades e/ou métodos de extração mais eficientes em termos de rendimento / tempo de coagulação do processo. Numa etapa posterior, após a determinação das melhores condições, elaboraram-se queijos frescos os quais foram avaliados em termos físicos e químicos, nutricionais e microbiológicos.

Como amostra controlo foi realizado um queijo fresco usando a quimosina como agente coagulante, e os coadjuvantes habitualmente utilizados na Oficina Tecnológica de Laticínios (OTL), como o leite em pó magro, o cloreto de cálcio e o cloreto de sódio.

5.2.1. Apuramento da formulação usando leite em natureza:

Conforme presente nas tabelas 13 e 14, foram aplicadas razões biomassa / solvente entre 15-30% e testadas com a adição de cloreto de cálcio, cloreto de sódio e leite em pó magro, seguindo as temperaturas de coagulação e extração indicadas, bem como o método de extração associado.

Tabela 13 Ensaio de produção com folha seca de figueira (1)

Biomassa	Métodos extração	Temperatura extração (°C)	Tempo de extração (h)	Biomassa / solvente (% m/v)	Temperatura coagulação (°C)	Incorporação de extrato no leite (V/V%)
Folhas secas	Ext.1	4	24	15	40	10
						20
						30
				20		10
						20
						30
				25		10
						20
						30
				30		10
						20
						30

Tabela 14 Ensaios de produção com folha seca de figueira (2)

Biomassa	Métodos extração	Temperatura extração (°C)	Tempo de extração (h)	Biomassa / solvente (% m/v)	Temperatura coagulação (°C)	Incorporação de extrato no leite (V/V%)
Folhas secas	Ext.2	20	0,5	15	40	10
						20
						30
				20		10
						20
						30
						30
	25	10				
		20				
		30				
	30	10				
		20				
		30				
	Ext.3	-20	48	15		40
20						
30						
20				10		
				20		
				30		
				30		
25				10		
				20		
				30		
				30		
30	10					
	20					
	30					
	30					

Num copo de precipitação, foram pesadas as folhas secas e a água destilada com recurso a uma balança de precisão, aplicando-se o respetivo método de extração associado à condição de extração. Para ser manuseado, o ext.3 foi retirado 2-3 h antes de se proceder à sua extração. Realizou-se o processo de filtração, por via de gaze esterilizada e o extrato líquido foi colocado em copos de precipitação de 50 ml. Para o armazenamento dos extratos líquidos (ext.1 e ext.3), recorreu-se a tubos de fálcon.

Em placas de Petri, procedeu-se à pesagem do cloreto de cálcio, cloreto de sódio e leite em pó magro, e introduziu-se em copos de precipitação de 250 ml com 250 ml de leite para coagular em estufa a 40 °C. Após a produção dos queijos, os mesmos foram avaliados em termos físicos e químicos, nutricionais e microbiológicos.

5.2.2. Formulações de coadjuvantes testadas:

Conforme descrito na tabela 15, determinou-se a dosagem de coadjuvantes a integrar na coagulação do leite a 40 °C em estufa, nomeadamente o leite de vaca fresco, o leite em pó magro, o cloreto de cálcio, o cloreto de sódio e a percentagem de incorporação de extrato no leite, realizada em triplicado.

Tabela 15 Formulação de coadjuvantes no leite

	Leite em pó (% m/v)	Leite (cl)	Cloreto cálcio (% v/v)	Cloreto sódio (% m/v)	Extrato (% v/v)
Ext.1	4	25	0,07	1	10
					20
					30
Ext.2	4	25	0,07	1	10
					20
					30
Ext.3	4	25	0,07	1	10
					20
					30

5.2.3. Otimização da coagulação com folha seca de figueira e validação da sua atividade coagulante no queijo fresco:

Conforme descrito no procedimento de extração e coagulação com folhas moídas e secas de figueira, avaliou-se o poder coagulante dos extratos através da determinação do tempo de coagulação. Esta validação permitiu a seleção das condições de extração e as percentagens de incorporação de extrato no leite mais adequadas.

5.2.3.1. Aumento de escala, obtenção e avaliação de queijos:

Após a realização dos ensaios de produção de queijo fresco com folhas secas de figueira, selecionou-se o ext.2, com base no melhor tempo de coagulação. Utilizou-se este extrato para produzir um lote de queijos, de forma a confirmar a capacidade coagulante do extrato escolhido, os tempos de coagulação e fazer uma caracterização microbiológica, física, química e nutricional.

5.3. Processo de fabrico do queijo fresco:

5.3.1. Fluxograma do novo produto e respetivas etapas:

O queijo fresco tradicional foi a base a partir da qual se procurou desenvolver um novo produto, com coalho de figueira, representado em fluxograma da figura 8.

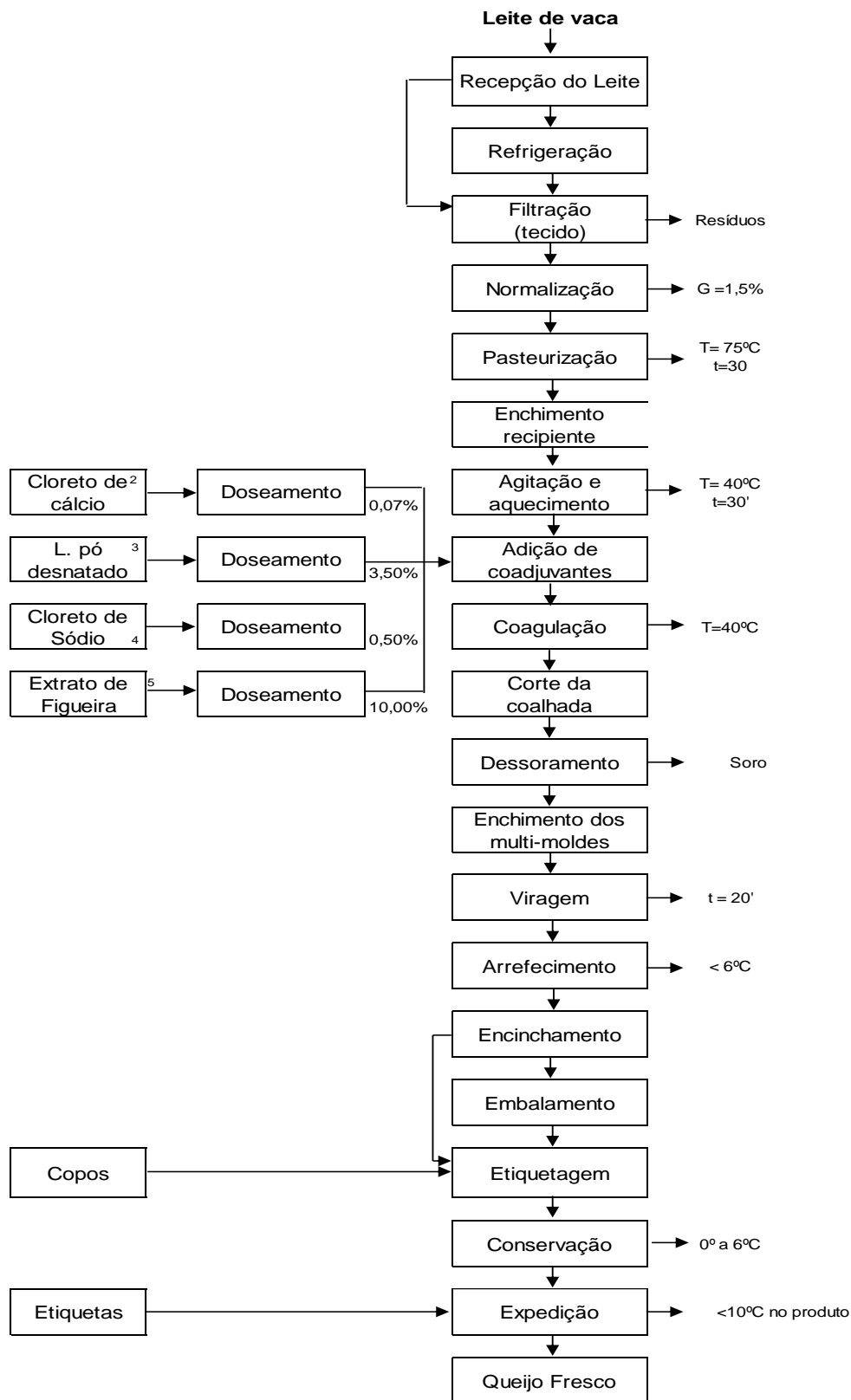


Figura 8 Fluxograma do queijo fresco com extrato de folhas de figueira

O leite utilizado no presente estudo foi rececionado na OTL em bilhas próprias (figura 9), tendo seguido para a refrigeração, onde permaneceu 24 h, a uma temperatura de 4 °C. Passou pela etapa da filtração, que tem como objetivo o reter eventuais impurezas

presentes no leite (e que devem ser retiradas de imediato), seguindo-se a normalização, que estabiliza o teor de gordura para valores de mais ou menos 3%.



Figura 9 Bilhas de leite

O leite foi posteriormente submetido a pasteurização, que ocorreu num pasteurizador de placas (figura 10), a 75 °C por 30 segundos, com vista a eliminar os microrganismos patogénicos não esporulados e todos aqueles prejudiciais ao processo de fabrico do queijo fresco.



Figura 10 Pasteurizador de placas

Do pasteurizador, seguiu por um tubo de ligação para a cuba, situada na secção de queijos, onde se retirou a quantidade necessária de leite para um recipiente próprio e se procedeu à respetiva agitação e arrefecimento do leite até 40 °C, com recurso a uma pá.

Transferiu-se o leite para copos de precipitação de 300 ml e adicionaram-se os coadjuvantes necessários à coagulação do leite, conforme a figura 11 (cloreto de sódio, o cloreto de cálcio, o leite em pó magro e o extrato vegetal de folhas de figueira). O leite foi submetido a coagulação enzimática a 40 °C em estufa, por 1h 20m / 1h 30m.



Figura 11 Coadjuvantes (cloreto de sódio, extrato líquido de figueira e leite em pó)

Após coagulado, procedeu-se ao corte da coalhada, nas medidas de 10 cm de altura por 5 cm de largura, com ajuda de uma faca, tendo permanecido em repouso por 5 minutos até à etapa seguinte (figura 12), o que permitiu formação de soro à superfície da coalhada.



Figura 12 Coalhada (com extrato de folha de figueira)

Avançou-se para o dessoramento, que consiste na eliminação de soro da coalhada, realizado na francela / superfície de trabalho [o soro libertado foi depois rejeitado]. Desta forma, foi efetuado o enchimento dos moldes, tal como na figura 13, prensando um pouco a coalhada para eliminar algum soro, com auxílio de um pano devidamente higienizado.



Figura 13 Enchimento dos moldes

Efetuuou-se a viragem dos moldes, colocou-se os queijos nos copos finais (com o nome de encinchamento), procedeu-se ao embalamento e à etiquetagem, e permaneceram em camara frigorífica a 6 °C para conservação [a partir da conservação, os queijos estão prontos para expedição].

5.3.2. Formulação de coadjuvantes aplicados ao novo produto (Queijo fresco com extrato de folhas secas de figueira):

De acordo com os ensaios realizados na OTL e em função do rendimento do extrato, foram registadas as dosagens dos coadjuvantes usados na produção destes queijos, cujos valores se encontram patentes na tabela 16.

Tabela 16 Formulação de coadjuvantes selecionada para produção de queijo fresco com extrato de folhas secas de figueira

	Leite em pó (%)	Leite (%)	Cloreto cálcio (% v/v)	Cloreto sódio (% m/v)	Extrato (% v/v)
Ext.2	4	25	0,07	1	10

5.4. Análises efetuadas em meio laboratorial:

5.4.1. Avaliação microbiológica:

Para a caracterização microbiológica do queijo fresco elaborado com folha de figueira, realizou-se um conjunto de análises microbiológicas no sentido de quantificar os grupos microbiológicos mais relevantes e de pesquisar microrganismos patogénicos.

Ainda neste âmbito, procurou-se também perceber a evolução desses grupos microbianos durante o período de uma semana. Para tal, foram analisados queijos no final da produção (t_0) e queijos do mesmo lote, ao fim de uma semana de armazenamento em condições de refrigeração (t_1). Foram avaliadas duas amostras em cada fase e as análises foram efetuadas em duplicado.

A partir das amostras de queijo fresco foram pesadas 10 g em condições de assepsia homogeneizadas em 90 ml de solução de Ringer, recorrendo à utilização de um Stomacher (como homogeneizador). A partir desta suspensão mãe, que correspondeu à diluição 10^{-1} , foram efetuadas as diluições decimais sucessivas adequadas ao tipo de produto e à carga microbiana expectável (10^{-2} ; 10^{-3} e 10^{-4}).

Depois de preparada a amostra e as diluições, aplicaram-se as quantificações de Aeróbios totais (Norma ISO 4833-1:2013), de Bactérias lácticas (Norma ISO 7889:2003), de Bolores e leveduras (Norma ISO 21527-2:2008), de *Escherichia coli* (Norma ISO 4396:2002), de Lactococos / *Streptococcus* (Norma ISO 9232:2003), de *Listeria monocytogenes* (Norma ISO 11290-2:2017), de *Salmonella* spp. (Norma ISO 6579-1:2017) e pesquisa de *Staphylococcus aureus* (Norma ISO 6888-1:2021).

No final do período de incubação aplicado para cada determinação, procedeu-se à contagem de colónias, expressando-se os resultados em UFC/g.

5.4.2. Análise físico-química aplicada ao leite de vaca:

O leite de vaca utilizado na produção dos queijos frescos foi recolhido, após sofrer um tratamento de pasteurização, sendo a amostra mantida a temperatura de refrigeração

até ao momento da análise (dia seguinte ao fabrico), no laboratório de laticínios da OTL. Em cada fase de produções de queijo, são elaboradas análises a uma quantidade de leite entre 70-80 ml, com recurso ao analisador LACTOSCAN SP ultrasonic milk analyzer (figura 14), que determinou os valores de gordura, pH, acidez titulável, lactose, sólidos não gordos, proteína, água, sais minerais e densidade.



Figura 14 LACTOSCAN SP ultrasonic milk analyzer

De acordo com a NP 474-1983, o objetivo da determinação da densidade foi avaliar eventuais fraudes no leite, como o desnate e a adição de água neste. Apesar de não ser uma prova por si só decisiva, tem a vantagem de mostrar informação útil e de forma rápida. Para medir a densidade, usou-se o termolactodensímetro. Calculou-se o valor de EST (segundo a NP 580:1970), a partir do valor da densidade combinado com a percentagem de gordura.

5.4.3. Análises físico-químicas do novo produto:

Tal como descrito na avaliação microbiológica, na físico-química também foram desenvolvidas análises que decorreram em dois momentos, sendo uma primeira avaliação logo após o fabrico (t_0), e a segunda avaliação ao fim de uma semana de armazenamento em condições de refrigeração (t_1).

De acordo com os queijos produzidos no laboratório de laticínios da OTL, foram determinados os parâmetros da gordura, da acidez titulável, da humidade, das cinzas, da a_w , do pH e da proteína.

- Determinação da matéria gorda: De acordo com a NP 2105-1983, o objetivo da determinação do teor de gordura é verificar se a percentagem de gordura se encontra dentro dos padrões mínimos exigidos. Para tal, foi usada a técnica de Van Gulick, cujo procedimento se encontra na norma.
- Determinação da acidez titulável: De acordo com a AOAC 920.124-1920, o objetivo deste tipo de teste é a determinação quantitativa exata do pH do leite. Os

valores de referência da acidez titulável são 16-20 NaOH, m/l. Na figura 15, apresenta o processo de decantação e o resultado final para a posterior determinação da acidez titulável com o indicador fenolftaleína.



Figura 15 Processo de decantação na determinação da acidez titulável

- Determinação da humidade e do EST: Para determinar o EST, foi necessário primeiro determinar o teor de humidade (figura 16). De acordo com os cálculos e respetivas fórmulas, conseguiu-se descobrir os valores obtidos de EST e da H.I.G. Segundo a NP 1598:1983, a determinação da humidade permite-nos, quando se conhece previamente a percentagem da matéria gorda, classificar os queijos quanto à sua consistência.



Figura 16 Processo de humidade do queijo

- Determinação da proteína: Para determinar a proteína bruta (AOAC method 991.20), utilizou-se o método de Kjeldhal, tendo sido considerado para os cálculos da proteína bruta o fator de 6,38. Na figura 17, encontram-se representados os elementos fulcrais desta determinação.



Figura 17 Hott, digestor e destilador (proteína)

- Determinação do pH: Para determinar o pH do leite e do queijo, utilizou-se o potenciômetro Hanna (figura 18), que engloba valores considerados ácidos (1-6), neutros (7) ou alcalinos / básicos (8-14). O procedimento foi aplicado com base no manual de análises de queijos do laboratório e de acordo com as instruções do equipamento.



Figura 18 Potenciômetro Hanna (pH)

- Determinação das cinzas (segundo Cecchi, 2021, citado por Santiago, 2017): Pesaram-se 2-2,5g da amostra para uma cápsula previamente seca e arrefecida no exsiccador e submetida a 550°C em mufla. O processo ficou concluído quando a amostra adquiriu uma cor branca / grisácea e não apresentou perda de massa em 2 pesagens sucessivas à mesma temperatura (após arrefecimento em exsiccador). Os resultados foram expressos em % (m/m);
- Determinação da atividade da água (a_w): O parâmetro a_w foi determinado por higrometria, recorrendo ao aparelho rotronic - Hygroskop DT, que tem como função o medir a atividade da água. O procedimento consistiu em introduzir a amostra na caixa, de forma a cobri-la (sem encher demasiado) e, de seguida, colocou-se o medidor por cima e aguardou-se até ele estabilizar;

5.4.4. Avaliação dos parâmetros da cor do novo produto:

Segundo a CIE, o espaço de cor $L^*a^*b^*$ foi criado após a teoria de cores opostas, onde duas cores não podem estar em simultâneo (Canha, 2011). Para esta avaliação, usou-se um colorímetro, a amostra em causa e uma placa de petri onde se colocou a amostra. Foram submetidas a análise 2 amostras de queijo fresco em cada ensaio produzido.

Para a determinação da cor, recorreu-se ao colorímetro CR-400 para a medição dos parâmetros CIE $L^*a^*b^*$ que correlaciona os valores de cor com a percepção visual (figura 19 (Canha, 2011)), identificando, comunicando e avaliando os atributos da cor,

em que L indica a luminosidade (varia entre 0 e 100), a^* refere-se à coordenada verde (-a) / vermelho (+a) e b^* refere-se à coordenada azul (-b) / amarelo (+b).

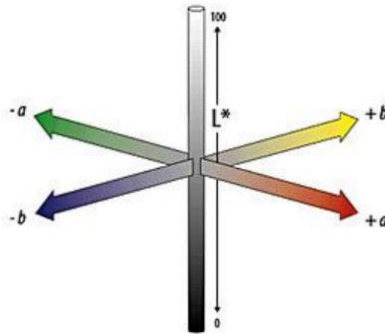


Figura 19 Parâmetros CIE L*a*b*

5.4.5. Avaliação dos descritores da textura do novo produto:

Segundo a ISO 11036-2020, existem várias propriedades texturais dos alimentos, sendo elas a adesividade, mastigabilidade, gomosidade, elasticidade, coesividade, dureza e a fraturabilidade. Enquanto propriedade crítica de um alimento, a sua determinação é feita por meio de um texturómetro que nos permite quantificar e avaliar estes descritores.

A caracterização reológica dos queijos frescos produzidos foi realizada com recurso à determinação instrumental das propriedades texturais, através da utilização de um texturómetro (TA.XT plus) e respetivo software de leitura de dados (TEE 32, Exponent Stable Microsystems).

Foram submetidas a análise duas amostras de queijo fresco em cada produção de queijo e elaborados testes de dupla penetração das amostras, com uma sonda de 10 mm de diâmetro, programado para atingir uma velocidade de teste de 1,00 mm/s, tempo de repouso entre a primeira e a segunda dentada de 3s e profundidade de penetração da amostra de 15 mm.

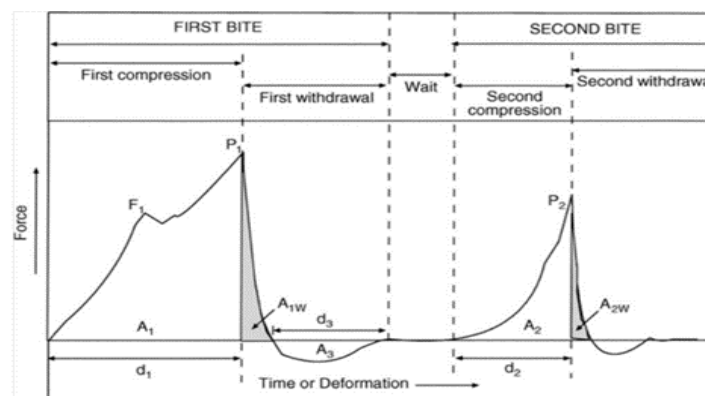


Figura 20 Comportamento reológico do queijo

Através da análise deste teste TPA, ilustrado na figura 20 (Martins, 2012), as áreas A_1 , A_{1w} e A_2 , A_{2w} são as zonas de compressão e retração da primeira e segunda dentada, e a área A_3 é o esforço necessário para a saída da sonda do material em teste. O pico da primeira (P_1) e da segunda compressão (P_2) corresponde à força necessária para a penetração do material.

5.4.6. Avaliação sensorial do novo produto:

A prova sensorial foi efetuada no dia 07 de setembro de 2023, no período da tarde, com um painel constituído por 21 provadores não treinados, da ESTM e do MARE, docentes e não docentes pertencentes à ESTM e ao MARE.

Com a realização de uma análise sensorial aos queijos frescos com extrato de figueira, pretendeu-se avaliar os descritores do odor, aparência, textura, sabor, aroma, cor, adstringência e apreciação global sobre a amostra apresentada. O objetivo desta prova foi a determinação do grau de aceitação e de satisfação do produto elaborado, em que se pedia aos provadores que indicassem a sua intenção de compra ou não.

Optou-se pela utilização de uma escala hedónica na ficha de prova, cuja pontuação se inicia no zero (0), que corresponde a “extremamente desagradável” e termina no cinco (5), que corresponde a “extremamente agradável”, para cada parâmetro a analisar.

O produto avaliado integrou-se na caracterização de um queijo fresco, com uma textura fina e mole, sem adição de ervas visíveis e com o elemento sustentável e inovador (o extrato de folhas de figueira). Para melhor apreciação, a amostra foi apresentada em tabuleiro, com umas mini tostas para degustação e um copo de água. O tabuleiro ainda contemplou a folha de prova, guardanapo, talheres e o prato de prova com a amostra.

A folha de prova sensorial usada encontra-se no **anexo I** (página 77). As provas realizaram-se na sala de análise sensorial da ESTM, onde cada provador tem acesso a uma cabine de prova individual, com temperatura e luz adequada, sendo o material entregue através de um postigo ligado à cozinha experimental, tal como previsto na ISO 11035:1994.

6. Resultados e Discussão:

6.1. Ensaio de produção do queijo com o extrato de figueira, e validação das condições determinadas *in vitro*:

A caracterização da atividade coagulante das folhas e galhos frescos e das folhas secas de figueira, permitiu determinar os tempos de coagulação dos diferentes métodos de extração, selecionando as condições mais adequadas ao objetivo. Foi igualmente investigada a percentagem de incorporação de extrato líquido no leite mais adequada para posterior aplicação.

6.1.1. Potencialidade de extração das folhas de figueira em queijos:

As tabelas 17, 18 e 19 apresentam os tempos de coagulação obtidos para os diferentes extratos produzidos, verificando-se que a relação biomassa/solvente (%) com valores reduzidos (5 a 10%), não permite a coagulação do leite, pelo menos num período favorável, concluindo-se que a atividade coagulante das folhas se verifica com relação biomassa / solvente superiores (20-30%).

Tabela 17 Verificação dos tempos de coagulação em função da incorporação de extrato no leite (1)

Biomassa	Método extração ¹³	Biomassa / solvente (m/v) %	Incorporação de extrato no leite (%)	Tempo coagulação (h)
Folhas secas	Ext.1	5	10	> 4
			20	
			30	
		10	10	> 4
			20	
			30	
		15	10	> 4
			20	3
			30	1,8
		20	10	1,6
			20	1
			30	0,6
		25	10	1,5
			20	1,2
			30	0,7
30	10	1,3		
	20	0,9		
	30	0,5		

¹³ Código: para encontrar as condições do método de extração, ir até às tabelas 10 e 11 do presente documento.

Tabela 18 Verificação dos tempos de coagulação em função da incorporação de extrato no leite (2)

Biomassa	Método extração ¹⁴	Biomassa / solvente (m/v) %	Incorporação de extrato no leite (%)	Tempo coagulação (h)
Folhas secas	Ext.2	5	10	> 4
			20	
			30	
		10	10	> 4
			20	
			30	
		15	10	> 2,5
			20	3
			30	1,7
		20	10	1,6
			20	1,1
			30	0,6
		25	10	1,4
			20	0,8
			30	0,6
		30	10	1,25
			20	0,8
			30	0,5
	Ext.3	5	10	> 4
			20	
			30	
		10	10	> 4
			20	
			30	
		15	10	> 4
			20	2,8
			30	1,7
20		10	1,9	
		20	1,3	
		30	0,8	
25		10	1,3	
		20	0,9	
		30	0,6	
30		10	1,3	
		20	0,9	
		30	0,7	

¹⁴ Código: para encontrar as condições do método de extração, ir até às tabelas 10 e 11 do presente documento.

Tabela 19 Verificação dos tempos de coagulação em função da incorporação de extrato no leite (3)

Biomassa	Método extração ¹⁵	Biomassa / solvente (m/v) %	Incorporação de extrato no leite (%)	Tempo coagulação (h)
Folhas frescas	Ext.4	5	10	> 2,5
			20	
			30	
		10	10	>2,5
			20	
			30	
	15	10	>2,5	
		20		
		30		
	Ext.5	5	10	>2,5
			20	
			30	
10		10	>2,5	
		20		
		30		
15		10	>2,5	
		20		
		30		
Galhos frescos	Ext.6	5	10	>2,5
			20	
			30	
		10	10	>2,5
			20	
			30	
	15	10	2,3	
		20		
		30		
	Ext.7	5	N.A.	> 2,5
		10		1,8
		15		1,5

N.A. – Não aplicável

Conforme mencionado nas tabelas 17, 18 e 19, os métodos de extração que correspondem às folhas e galhos frescos, apresentaram períodos de coagulação muito longos, comparando com os tempos de coagulação de queijos com as folhas secas de figueira. Nesse sentido, as produções de queijo fresco prosseguiram apenas com folhas secas.

¹⁵ Código: para encontrar as condições do método de extração, ir até às tabelas 10 e 11 do presente documento.

Enquanto elemento de comparação, foi produzido um queijo fresco de forma tradicional com quimosina, conforme mencionado na tabela 20, comprovando que a sua atividade coagulante consegue coagular o leite em 30 minutos, aproximadamente.

Tabela 20 Queijo fresco com quimosina (enquanto comparação ao queijo fresco com extrato de figueira)

Biomassa	Incorporação no leite (%)	Temperatura de coagulação (°C)	Tempo de coagulação (h)
Quimosina	0,07	40	0,5

6.2. Otimização da coagulação com folhas de figueira e validação da sua atividade coagulante no queijo fresco:

Após definida a melhor formulação de extrato no queijo, as condições de extração selecionadas foram validadas em leite em natureza, tendo sido selecionados os parâmetros de extração e incorporação refletidos na tabela 21.

Tabela 21 Otimização da caracterização do coalho vegetal

Biomassa	Método extração	Biomassa /solvente (m/v) %	Temperatura extração (°C)	Tempo extração (h)	Temperatura coagulação (°C)	Incorporação de extrato no leite (v/v) %	Tempo coagulação (h)
Folhas secas	Ext.2	30	20	0,5	40	10	1,25

Após análise dos tempos de coagulação das folhas secas, verificou-se que a incorporação de 30% de extrato no leite, se destacava por apresentar melhores resultados. Contudo, a cor e o sabor do queijo poderiam ficar afetados negativamente aquando da perceção sensorial, pelo que a incorporação de 10% de extrato no leite foi a formulação considerada mais adequada para o fabrico de queijo fresco.

6.2.1. Caraterização física, química e nutricional do leite usado:

Conforme indicado na tabela 22, amostras de 70 ml de leite cru de vaca a uma temperatura de 20 °C, foram submetidas a uma avaliação física, química e nutricional, no sentido de quantificar os descritores mencionados em tabela (DL n.º 62/2017, de 09 de junho; NP 470:1983; NP 473:1983; NP 475:1983; NP 477:1987; NP 573:1979; NP 675:1986), cujos resultados estão apresentados na tabela 22 com os de referência.

Tabela 22 Avaliação dos descritores do leite em comparação com os valores de referência

Amostra de leite (70 ml)	Resultados	Valores de referência
Lactose (%)	4,63±0,10	≥ 4,7
Gordura (%)	3,42±0,07	≥ 3
Proteína (%)	3,21±0,06	≥ 3
Sólidos não gordos (%)	8,42±0,28	8 a 12
Sais minerais (%)	0,69±0,01	± 0,70
Acidez (°T)	18,5±0,42	16 a 20
Densidade	1.036±0,00	1,028 a 1,035

Ao comparar os resultados obtidos com os de referência (DL n.º 62/2017, de 09 de junho; NP 470:1983; NP 473:1983; NP 475:1983; NP 477:1987; NP 573:1979; NP 675:1986), os parâmetros avaliados encontram-se dentro dos limites de referência, com a exceção da densidade que apresenta um valor um pouco superior ao de referência. Porém, no estudo de Bandeira (2010), o valor de densidade também se registou nos 1,036.

Devido a erros técnicos, o valor de pH não foi considerado.

6.2.2. Validação do queijo com extrato de figueira sob perspectiva física, química, nutricional e microbiológica:

Para validação do extrato de figueira no queijo fresco, foram avaliadas as características físicas, químicas e nutricionais de queijos frescos, estando indicados os resultados destas análises na tabela 23, juntamente com os limites de referência relativos a este produto, para comparação.

Tabela 23 Avaliação físico-química e nutricional do queijo

	pH	Acidez %	Humidade %	Cinza %	Gordura %
Resultados	6,41±0,01	0,16±0,03	74,9±0,89	2,28±0,25	7,63±0,48
Valores referência	6,5 a 6,7	0,14 a 0,18	≥ 67	0,7 a 6	≤ 10

Como é possível constatar pelos resultados patentes na tabela 23, o pH encontra-se significativamente abaixo do valor de referência, no entanto, segundo Alvarenga (2000), citado por Moreira (2019), Macedo (2018) e Serol (2017), este valor é considerado “aceitável” e justificado pela integração de coalhos vegetais no queijo fresco, concluindo-se que o mesmo se encaixa na caracterização de um queijo fresco magro, de pasta mole e com um teor de humidade elevado.

Na tabela 24, apresentam-se os resultados obtidos da avaliação realizada à cor do produto, destacando que a luminosidade e as coordenadas vermelho / verde e amarelo / azul, se encontram dentro dos parâmetros de referência, além de estarem de acordo com os resultados obtidos em estudos descritos por Alvarenga (2008), citado por Serol (2017), Canada (2001) e Tenreiro (2014).

Tabela 24 Avaliação dos parâmetros da cor no queijo fresco com extrato de figueira

Cor		
L*	a*	b*
74,25±2,55	-4,68±0,33	17,2±0,72

Nesse sentido, determinou-se que o queijo se caracteriza por ter um brilho considerável (quanto mais perto do 100, mais brilho tem) e por ser amarelo/acastanhado. Segundo Aloui *et al.* (2021), Arvaniti *et al.* (2019), Bachir Bey & Louaileche (2015), citado por Arvaniti *et al.* (2019), Hanif *et al.* (2019), Serol (2017) e Solomon *et al.* (2006) citado por Afonso (2019), os queijos analisados com coalhos vegetais (alcachofra, cardo, figueira e papaia), destacam-se por ter uma caracterização a nível dos parâmetros da cor semelhante ao desta avaliação.

No âmbito da validação do queijo fresco produzido com extrato de folhas figueira, determinaram-se os parâmetros associados à textura em amostras de queijo, conforme indicado na tabela 25, avaliação realizada em duplicado. Nesse sentido, verificou-se que este queijo, tem uma dureza relativamente baixa, ou seja, é quebradiço e mole, não tem muita elasticidade, porém a sua adesividade é elevada, o que sustenta os estudos anteriormente referidos por Aloui *et al.* (2021), Desta *et al.* (2020) e Macedo (2018).

Tabela 25 Propriedades texturais do queijo fresco com extrato de figueira

Textura		Resultados	Referência ¹⁶	Autores
	Adesividade (N/s)	-123,35±4,45	-5 a -99	Limites estabelecidos segundo os resultados dos estudos de Barreto (2022), Buriti <i>et al.</i> (2008), Moreira (2019), e Serol (2017)
Coesividade	0,50±0,02	0,4 a 0,6		
Mastigabilidade	10,85±0,19	5 a 20		
Gomosidade	11,11±0,13	2 a 10		
Elasticidade	0,98±0,01	0,8 a 0,9		
Dureza (N)	22,5±1,13	5 a 30		

Conforme Lopes (2022) e Maruyama *et al.* (2006), citado por Moreira (2019), os queijos com maior dureza tendem a apresentar uma maior adesividade, concluindo que

¹⁶ Não foi encontrada legislação oficial que fundamente os limites de referência aplicados a queijo fresco.

este queijo se caracteriza por ser de pasta mole (dureza reduzida), alguma elasticidade e fácil de mastigar em termos de processar a amostra na superfície em que entra em contacto

Apesar da gomosidade estar acima dos valores indicados como recomendados para queijo fresco, segundo Alcântara *et al.* (2020), citado por Almeida *et al.* (2020), e Bolzan & Pereira (2017), citado por Afonso (2019), a gomosidade é um parâmetro secundário, que está associado à firmeza e à coesividade, pelo que a variação da gomosidade é reflexo destas.

Na vertente microbiológica, foram analisadas amostras de queijo fresco com a finalidade de quantificar os grupos microbianos referidos na tabela 26, que também inclui os limites de referência estipulados.

Tabela 26 Microbiologia do queijo fresco com extrato de folhas de figueira

Microrganismos	Resultado (Log UFC/g)	Critérios / valores de referência (Log UFC/g)			
		Satisfatório	Questionável	Não satisfatório	Autor / legislação
Aeróbios totais	3,45±3,54	< 5	Entre 5 e 6	> 6	Giannuzzy <i>et al.</i> (1999), citado por Veiga (2012) Gilbert <i>et al.</i> (2000), citado por Oliveira (2010)
Bolores e leveduras	2,73±2,29	< 3	Entre 3 e 4	> 4	INSA (2019). Sem legislação
<i>E. coli</i>	0,00±0,00	Ausente em 25g	Não aplicável	> 3	Regulamento (CE) n° 1441/2007, da Comissão, de 05 de dezembro
Lactobacilos	3,24±4,02	< 5	Entre 5 e 6	> 6	Desta <i>et al.</i> (2020)
Lactococos	3,80±2,09	< 5	Entre 5 e 6	> 6	Lopes (2022) Serol (2017) Veiga (2012)

Resultados idênticos aos obtidos nas amostras analisadas são relatados por Aloui *et al.* (2021), Barreto (2022), Desta *et al.* (2020), Giannuzzy *et al.* (1999), citado por Veiga (2012), Gilbert *et al.* (2000), citado por Oliveira (2010), Hanif *et al.* (2019), Lopes (2022) e Serol (2017), constatando-se que todas as amostras de queijo fresco avaliadas se enquadram no nível “Satisfatório”, conforme indicado na tabela 31. A ausência de *E. coli*, indicador de contaminação fecal e grau de higienização reforça a segurança do alimento.

Sendo os lactobacilos predominantes em produtos láteos como o queijo fresco, é expectável que a sua presença seja um pouco variável de produção para produção (de lote de leite), e que, desta forma, o seu teor seja mais ou menos elevado. No caso dos bolores e leveduras, Berthier *et al.* (2014) refere resultados idênticos aos indicados na tabela 26.

6.3. Caraterização física, química, nutricional, microbiológica, da cor e da textura durante uma semana de armazenamento:

Com o intuito de estudar a qualidade do queijo durante uma semana de armazenamento de refrigeração, em termos físico-químicos, microbiológicos, de textura e cor, foram avaliadas duas amostras de queijo fresco no próprio dia de produção (t_0) e duas amostras de queijo, do mesmo lote, ao fim de uma semana de produção (t_1). Os resultados desta avaliação estão apresentados no gráfico da figura 21.

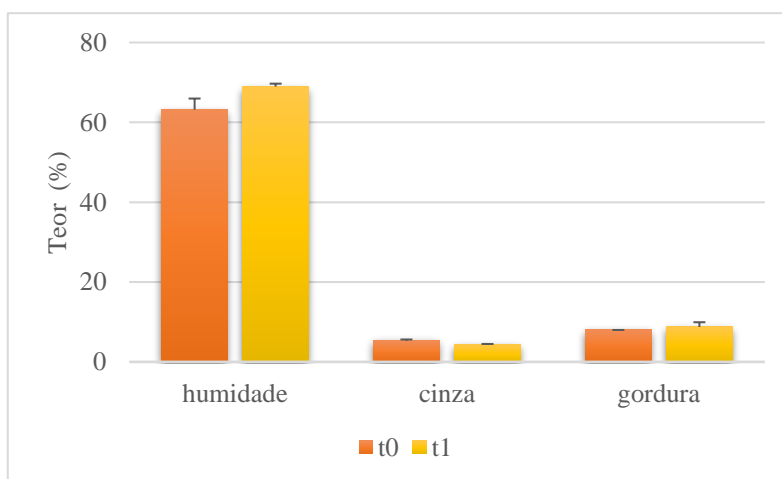


Figura 21 Comparação física, química e nutricional a t_0 e a t_1

Comparando os valores obtidos nos dois momentos estudados, verifica-se que não existem diferenças significativas consideráveis entre as duas avaliações, o que está de acordo com os resultados dos estudos de Alvarenga (2008), citado por Serol (2017) e Canada (2001). Quando se avalia um queijo fresco com intervalo de uma semana de produção, existe uma tendência para diminuir o teor de minerais do queijo e o teor da umidade (Alvarenga, 2008, citado por Serol, 2017; Canada, 2001).

No entanto, Lopes (2022) e Oliveira (2010) apontam que quanto mais fino for o corte da coalhada, maior será a quantidade de soro eliminado, originando assim num queijo com um menor teor de umidade. Já a utilização de sal nos queijos promove a sinérese do soro, levando a uma redução de umidade (Lopes, 2022; Alves *et al.*, 2012).

Relativamente à gordura, este queijo caracterizou-se por ser um queijo magro (< 10% gordura), que permitiu classificá-lo como sendo de pasta mole (> 67% de umidade) (NP 2105:1983 e NP 1598:1983). Quanto aos valores de pH e de acidez, concluiu-se que os mesmos se encontram dentro dos limites estabelecidos de referência (tabela 27).

Tabela 27 Comparação de pH e acidez com uma semana de intervalo

	pH	Acidez (%)
Resultados a t ₀	6,28±0,02	0,21±0,01
Resultados a t ₁	6,20±0,02	0,28±0,01
Referência	6,3-6,5	0,16-0,18

A acidez pode atribuir-se ao facto de os queijos serem produtos fermentados por ação das bactérias lácticas que ao produzir ácido láctico levam a uma diminuição do pH (Freitas & Malcata, 2000, citado por Santos, 2015; Alves *et al.*, 2009). Segundo Faber (1991), citado por Santiago (2017), Fandos *et al.* (2000), citado por Santiago (2017), Malcata & Tavares (2012), citado por Amaral *et al.* (2020), e Olarte *et al.* (2002), citado por Santiago (2017), também registaram nos seus estudos uma diminuição do valor de pH ao fim de alguns dias de produção do queijo.

Sendo este um alimento altamente perecível, tem tendência a tornar-se mais ácido e a degradar-se após a sua produção, uma vez que o seu aumento está diretamente relacionado com a quantidade de bactérias lácticas, responsáveis por fermentar a lactose, resultando em ácido láctico (Brazaca-Caniatti *et al.*, 2009).

Brazaca-Caniatti *et al.* (2009) e Viçosa *et al.* (2019), citado por Arvaniti *et al.*, 2019, referem que os valores de acidez em queijos podem ser facilmente modificados e o seu aumento pode estar diretamente relacionado com a quantidade de bactérias (principalmente lácticas), visto que estas são responsáveis por fermentar a lactose, que resulta em ácido láctico.

Relativamente aos parâmetros da cor, nomeadamente à luminosidade (L*), à coordenada verde / vermelho (a*) e à coordenada amarelo / azul (b*), obtiveram-se os resultados patentes na figura 22.

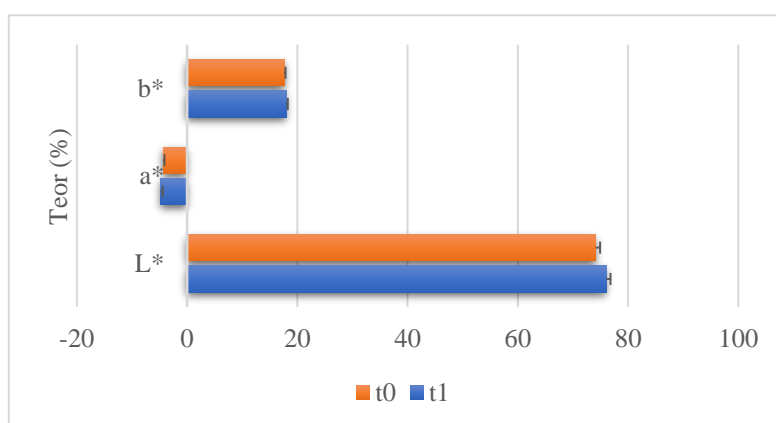


Figura 22 Evolução da cor do novo produto durante uma semana de armazenamento em refrigeração

Após a produção do queijo fresco, ocorre, entre outras reações físico-químicas, a degradação dos lípidos, proteínas e vitaminas, que está associada à exposição do produto à luz e que pode modificar a cor do queijo (Leitão, 2017) e levar a que o produto passe de uma leve tonalidade esverdeado-acastanhada para uma tonalidade mais castanho / verde-escura, perdendo também parte do seu brilho inicial, muito característico num produto láteo como o queijo fresco (Aloui *et al.*, 2021; Desta *et al.*, 2020; Hanif *et al.*, 2019; Solomon *et al.*, 2006, citado por Arvaniti *et al.*, 2019).

Esses produtos são expostos à luz natural ou artificial durante os processos de fabrico, embalagem e distribuição, e essa exposição à luz ocasiona a degradação de lípidos, proteínas e vitaminas que podem modificar a cor do queijo (Leitão, 2017). Lopes (2022) e Perry (2004), citado por Fernandes (2015), apontam que a cor está ligada ao teor de gordura e à caseína, pelo que a cor do queijo pode ser influenciada mediante estes fatores.

Quanto à textura, conforme representado pelo gráfico da figura 23, concluiu-se que os descritores se alteraram significativamente, desde o momento de produção (t_0) até ao final de uma semana de armazenamento (t_1). Isto deve-se ao facto de, à medida que o tempo de análise avança, o queijo perde humidade, ficando mais “duro” e, com isso, os restantes descritores aumentam também (Alvarenga (2000), citado por Moreira (2019); Lopes, 2022; Serol, 2017).

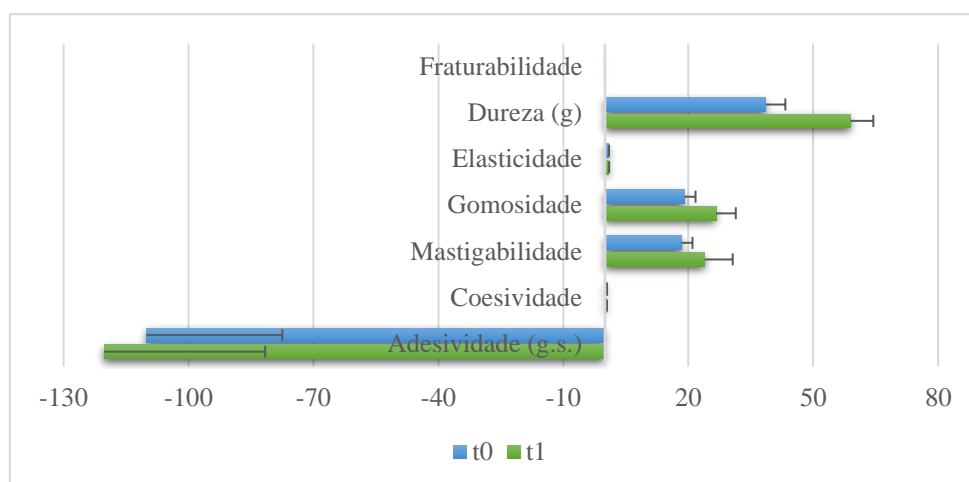


Figura 23 Comportamento das propriedades texturais do novo produto (evolução ao fim de uma semana de produção)

Verificou-se que a dureza e adesividade aumentaram consideravelmente, ao passo que a elasticidade e a coesividade diminuíram levemente, à medida que o tempo avançou entre a sua produção e a respetiva análise.

Pôde-se assim confirmar que foi necessário exercer uma força considerável para remover o material que aderiu à superfície, porém em termos de dureza, caracterizou-se por ser bastante mole e pouco firme. Alvarenga (2000), citado por Moreira (2019), Moreira (2011) e Serol (2017) referiram que a dureza do queijo está interligada com o seu teor de gordura, pelo que este queijo, sendo de baixa dureza, pode estar relacionado com o baixo teor de gordura.

Segundo os estudos de Alvarenga (2008), citado por Serol (2017, ASTM (1992), Barreto (2022), Civille & Szczesniak (2002), citado por Bandeira (2010) e por Lopes (2022), Macedo (2018) e Serol (2017), os valores médios da adesividade rondam entre os -15 e os -99 kgf.s., comprovando que este queijo com este tipo de coagulante apresenta uma adesividade consideravelmente elevada.

Segundo os mesmos autores, faz sentido que a adesividade aumente com o aumento da dureza, já que a adesividade está relacionada com a aderência do mesmo na superfície de contacto do provador e, quanto mais a amostra endurece, mais aderência vai existir.

No que concerne à avaliação microbiológica, procedeu-se à quantificação dos Aeróbios totais, Lactobacilos, Lactococos, Fungos (bolores e leveduras) e *E. coli*, no dia de produção (t_0) e ao fim de uma semana (t_1), tal como se pode observar no gráfico da figura 24.

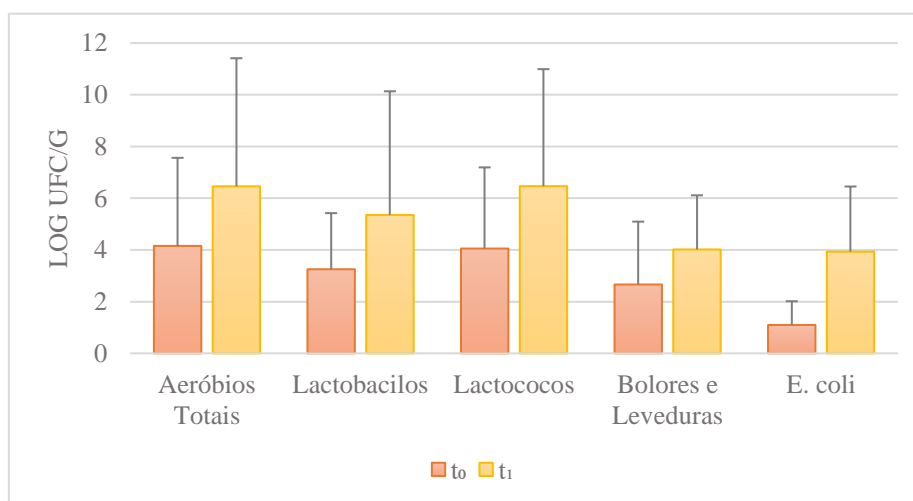


Figura 24 Quantificação microbiana no queijo fresco no dia de produção (t_0) e ao fim de uma semana de armazenamento (t_1)

Analisando os resultados obtidos (figura 24), percebe-se que os aeróbios totais e os lactococos se destacam como sendo os grupos microbianos com maior predominância,

em ambos os períodos Canada (2001), Oliveira (2010), Roseiro *et al.* (2003), citado por Dejonghe *et al.* (2016), e Serol (2017) apresentam contagens de aeróbios totais entre 3,63 (t_0) e 6,35 Log UFC/g (dois dias após produção) e entre 6,35 (seis dias) a 8,42 Log UFC/g (nove dias após produção) e, de lactococos e lactobacilos entre 2,7 (t_0) e 2,9 Log UFC/g (dois dias após produção) e entre 4,7 (seis dias) e 5,3 Log UFC/g (nove dias após produção).

Ao comparar com os valores de referência anteriormente indicados na tabela 31, averiguou-se que, no dia de obtenção do produto final (t_0), todos os grupos microbianos quantificados se encontravam no nível “Satisfatório”, com exceção da *E. coli*, que se encontrava no nível “Não Satisfatório”, e que, após uma semana (t_1), aumentaram de forma generalizada, apresentando índices no nível “Não Satisfatório”.

Os queijos frescos devem ser conservados em refrigeração, a uma temperatura compreendida entre 0 e 5 °C, tendo nestas condições um período de validade máximo de 5 dias (Ferreira, 2000, citado por Oliveira, 2010; NP 1921:1985). Em contrapartida, Bouma & Schmidt (1992) e Dias (2020) consideram que 72 h é o prazo limite para consumo do queijo fresco.

No entanto, existem muitos fatores que podem influenciar a vida útil de alimentos perecíveis como este, nomeadamente o efeito do oxigénio atmosférico e o crescimento de microrganismos que possa ocorrer no produto e que causam alterações no odor, sabor, cor e textura, não sendo, por isso, possível aferir com exatidão qual o tempo de vida útil deste produto após produção.

Na tabela 28, é possível consultar os resultados da pesquisa de presença dos indicadores de segurança realizados às amostras de queijo ao longo de uma semana.

Tabela 28 Avaliação dos indicadores de segurança dos queijos a t_0 e t_1

*	Queijos a t_0	Queijos a t_1	Referência
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente em 25 g	Ausente em 25 g	Ausente em 25 g
Estafilococos coagulase positiva	Ausente em 25 g	Ausente em 25 g	Ausente em 25 g
<i>Listeria monocytogenes</i>	Ausente em 25 g	Ausente em 25 g	Ausente em 25 g

* Regulamento (CE) nº 1441/2007 da Comissão, de 05 de dezembro de 2007, aplicado a queijos frescos

Nas condições do ensaio, as amostras de queijo fresco analisadas no dia da produção e ao fim de uma semana de armazenamento, não apresentaram *Salmonella* spp., nem Estafilococos coagulase positiva e nem *Listeria monocytogenes* (tabela 28). A

ausência destes microrganismos patogênicos em 25 g de produto, indica a eficiência do processamento térmico, o cumprimento das boas práticas de higiene e a inexistência de eventuais contaminações cruzadas (Gilbert *et al.*, 2020, citado por Oliveira, 2010).

6.4. Avaliação sensorial aos atributos do novo produto:

Efetuuou-se a caracterização do painel de provadores em termos de idade (Figura 25), observando que a maioria dos provadores se encaixa na faixa etária dos 50 - 59 anos.

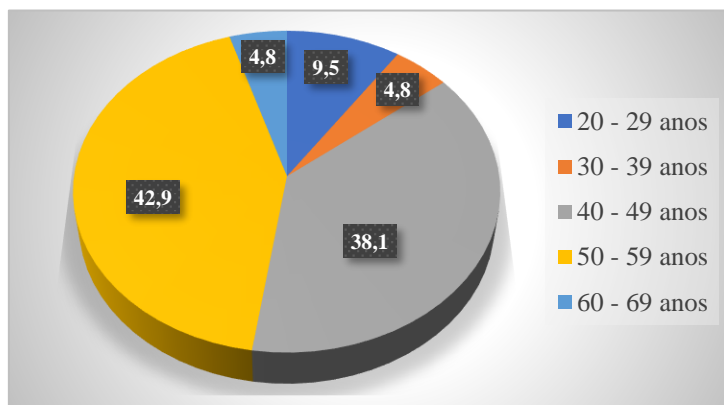


Figura 25 Avaliação em termos de idade do painel

Com vista a avaliar a aceitação da amostra apresentada, foi solicitado ao painel que apreciase a amostra relativamente aos atributos mencionados no gráfico da figura 26, mediante a existência de uma escala hedónica, cotada de 1 a 5, conforme se encontra em folha de prova sensorial no **anexo I**. Neste sentido, verificou-se que o cheiro apresentou a melhor classificação de todos os descritores em detrimento dos atributos do sabor e da adstringência que pontuaram resultados menos desejáveis no produto.

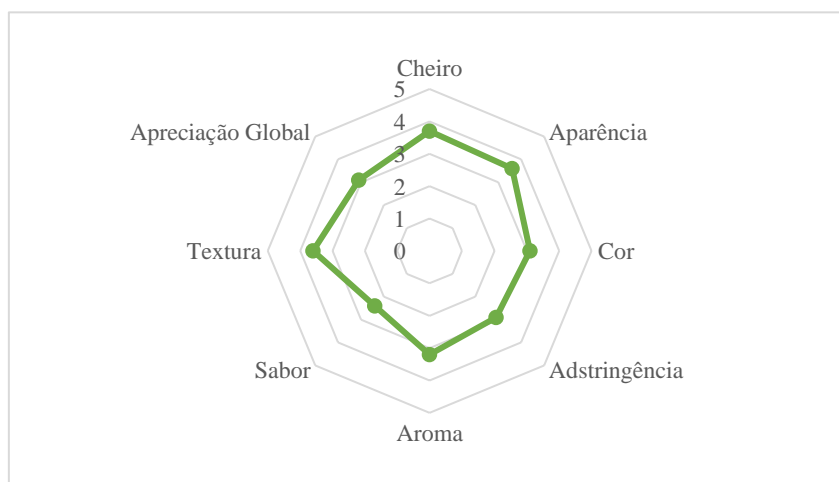


Figura 26 Caracterização dos atributos do novo produto

Segundo os estudos de Afsharnezhad *et al.* (2018), Ali *et al.* (2022), Anusha *et al.* (2014), citado por Abdeen *et al.* (2021), Barolo *et al.* (2014), citado por Arvaniti *et al.* (2019), Bruno *et al.* (2010), citado por Aloui *et al.* (2022), Cogan *et al.* (2000), Desta *et al.* (2020), Lo Piero *et al.* (2002), citado por Abdeen *et al.* (2021) e Tesfaw (2021) revelaram que o queijo fresco com coalhos vegetais como este era apontado como tendo efeitos indesejáveis no produto final, como o sabor amargo e adstringente.

Com o objetivo de determinar a intenção de compra da amostra por parte do painel (Figura 27), concluiu-se que a grande maioria dos provadores (67%) não compraria a amostra, em comparação com os 33% que tem intenção em comprar a amostra.

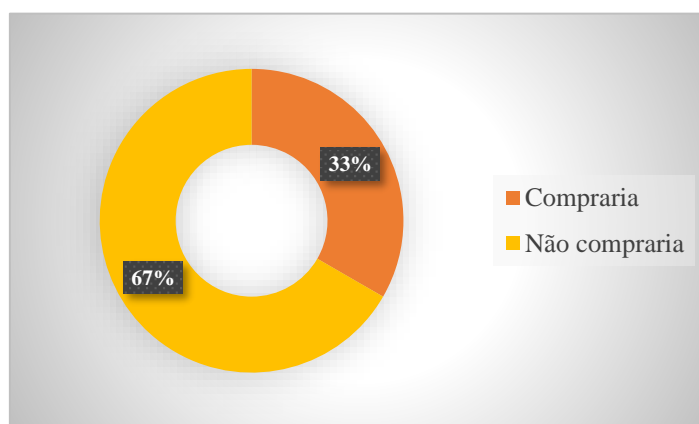


Figura 27 Intenção de compra por parte dos provadores

Com estes resultados, é viável a realização de mais estudos e experiências com o objetivo de melhorar as avaliações dos descritores do sabor, cor e adstringência do queijo, e reajustar as condições de extração e incorporação de extrato no queijo.

6.5. Análise SWOT aplicada ao novo produto:

Foi também realizada uma análise SWOT a este novo produto, destacando pontos fortes, pontos fracos, ameaças e oportunidades a que este produto está sujeito quando do momento de ser avaliado pelo consumidor final.

Os pontos fortes podem ser a possibilidade de incremento de maior diversidade associada a esta gama de produto, a modernização tecnológica ao nível do coagulante e embalagem utilizados para o processo de fabrico deste produto e o facto de ser um produto inovador, que reutiliza coprodutos de coalhos vegetais na produção de laticínios.

No entanto, existem pontos fracos, como a escassez / condicionamento de extrato ao longo do ano, a dificuldade no tratamento de coprodutos de figueira, a incerteza

associada à recetividade do produto e custos associados à necessidade de adaptação às normas ambientais ou à segurança alimentar.

Nas ameaças, temos a competitividade do setor pendente pelos agentes de venda e fator escala e a concorrência com a comercialização de queijos frescos de origem vegetal (com a utilização do cardo como substituto de coalho animal).

As oportunidades podem ser os apoios à diferenciação, valorização e inovação do produto para a sua exportação e respetiva produção com os laticínios e o aumento do consumo de queijo fresco per capita, de produtos diferenciadores e lojas gourmet.

7. Considerações finais e perspectivas futuras:

O desenvolvimento de um queijo fresco de vaca com a adição de um extrato de folhas de figueira surge como alternativa aos produtos existentes no mercado, quer pela sua valorização, inovação e diferenciação. Nesse sentido, este trabalho recaiu essencialmente em novas formas de inovar, tanto pela vertente da sustentabilidade como pela vontade de estudar melhor novas fontes de coalhos e subprodutos existentes.

Com isso, foram investigadas as condições de extração que conduzissem a maior atividade coagulante, tendo sido selecionada a extração nº2 (ext.2). Após seleção das condições de extração, foram definidas as condições de produção, confirmando o seu potencial coagulante no leite ao incorporar 10 % de extrato ao leite.

Ao desenvolver um produto base como o queijo fresco, percebeu-se que os ácidos orgânicos presentes nos alimentos influenciam o sabor, o odor, a cor, a estabilidade e a manutenção da qualidade deste, pelo que devem ser asseguradas as normas e práticas de higiene, produção e manuseamento dos utensílios / produtos alimentares, com a finalidade de minimizar possíveis riscos microbiológicos, físicos e químicos.

O presente estudo permitiu selecionar e implementar as metodologias analíticas adequadas ao controlo analítico de alimentos, concluindo que o produto a nível físico-químico, microbiológico e nutricional, se encontra dentro dos limites de referência, bem como a cor, que se caracteriza por ser idêntica à de queijos frescos com este tipo de extrato vegetal.

Com isso, foi possível determinar os aspetos mais e menos satisfatórios, pelo que as perspectivas futuras deste novo produto vão ao encontro dessas necessidades, nomeadamente o reajuste da percentagem de incorporação de extrato no queijo, adotar melhorias nos descritores sensoriais (sabor e cor e a correção da adstringência no produto, associada também às próprias folhas da planta), apostar no estudo novas formas de aproveitamento e utilização de coprodutos da figueira e de outros tipos de plantas e realizar uma prova sensorial que atinja um maior número de provadores, para melhor caracterização.

8. Referências bibliográficas:

- Abdeen, M. M. E., Ibrahim, A. O. & Kholif, M. M. A. (2011). Utility of Moringa oleifera waste as a coagulant in goat soft cheese production. Food Science and Nutrition (volume 7, issue 7): Consulta no dia 18 de março de 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S240584402101639X>
- Abrantes, R. M., Campelo, S. C. & Silva, A. B. J. (2014). Fraude em leite: Métodos de detecção e implicações para o consumidor (Rev Inst Adolfo Lutz. 2014; 73(3):244-51). Consulta no dia 18 de dezembro de 2022. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2014/ses-31994/ses-31994-5905.pdf>
- Afonso, G. C. A. J. (2019). Caracterização das cultivares Lampa Preta e Pingo de Mel e influência do sistema de condução no vigor, na produção e na qualidade. Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Agronómica. Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa. Consulta no dia 13 de dezembro de 2022. Disponível em: https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/18398/1/Disserta%c3%a7%c3%a3o_definitiva_JoanaAfonso_2019.pdf
- Afsharnejhad, M., Sariri, R. & Shahangian, S. S. (2018). A novel milk-clotting cysteine protease from *Ficus johannis*: Purification and characterization. International Journal of Biological Macromolecules (Volume 121, pp. 173-182). Consulta no dia 12 de dezembro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813018330563>
- Aguiar, F. C. G. M. (2013). Fruticultura: A Figueira. Direção de Agricultura e do Desenvolvimento Rural. Consulta no dia 09 de outubro de 2022. Disponível em: <https://dica.madeira.gov.pt/index.php/producao-vegetal/fruticultura/316-a-figueira>
- Aider, M. (2021). Potential applications of ficin in the production of traditional cheeses and protein hydrolysates. JDS Communications (volume 2, issue 5, pp. 233-237). Consulta no dia 15 de novembro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666910221000715>
- Ak, M. M. & Gunasekaran, S. (2002). Cheese Rheology and Texture- Food Science & Technology (ISBN: 9780429135835, 1st Edition, 456 pp). Consulta

no dia 14 de dezembro de 2022. Disponível em:
<https://doi.org/10.1201/9781420031942>

- Albrecht-Seidel, M., Blanchard, F., Carrasco, R., Jurss, K., Laithier, C., Murphy, J., Nepomuceno, A., Sienkiewicz, M. & Voort, V. I. (2017). Código Europeu de Boas Práticas de Higiene na produção de queijo artesanal e de produtos láteos. In Moulem, Y. (2017), da FACENetwork. Rede Europeia de Produtores de Queijos de Quinta e Queijos Artesanais. Consulta no dia 23 de abril de 2023. Disponível em: https://www.estadao.com.br/blogs/blog/wp-content/uploads/sites/667/2021/12/portuguese-ggghp-final_271220215217.pdf
- Albuquerque, G. T., Ayuso, M., Barros, L., Carpena, M., Ferreira, R. F. C. I., Oliveira, P. P. B. M., Prieto, A. M., Simal-Gandara, J. & Taofiq, O. (2022). Fig “*Ficus carica* L.” and its by-products: A decade evidence of their health-promoting benefits towards the development of novel food formulations. Trends in Food Science & Technology (volume 127, p. 1-13). Consulta no dia 26 de outubro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224422002035>
- Ali, M. M. A., Bavisetty, B. C. S. & Sant'Ana, S. A. (2022). Sustainable preservation of cheese: Advanced technologies, physicochemical properties and sensory attributes. Trends in Food Science & Technology (volume 129, p. 306-326). Consulta no dia 10 de maio de 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224422004095>
- Almeida, J. L. R., Eduardo, S. R., Monteiro, G. Y., Moreira, N. I. F., Pereira, S. T., Ribeiro, A. H. V., Santos, C. N., Silva, A. M. V., Silva, I. R. L. & Silva, M. G. (2020). Instrumental texture profile and microbiological evaluation of coalho cheese marketed in free fairs. Research, Society and Development (Volume 9, n. 5). ISSN 2525-3409. Consulta no dia 29 de janeiro de 2023. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/3143>
- <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/download/3143/2464/13444>
- Almeida, J. L., Amaral, M. S., Azevedo, H. P., Branco, J. F., Cabral, A. C., Guerra, J., Henriques, C. S., Madanelo, J. P., Malta, M. C., Melo, A. A., Noronha, J. F., Oliveira, M. J., Rodrigues, R. M., Sampaio, F. F. & Santos, C. (2005). Boas práticas de fabrico em queijarias tradicionais. Coimbra: Escola Superior Agrária de Coimbra. Consulta no dia 15 de outubro de 2022.

- Aloui, O., Fortina, R. & Hachana, Y. (2021). Use of caprifyg tree extract as a substitute for calf rennet in goat's fresh cheese production. *Small Ruminant Research* (volume 199). Consulta no dia 12 de outubro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448821000675>
- Álvarez-Rivera, G., Cifuentes, A., Ibáñez, E., Socas-Rodríguez, B. & Valdés, A. (2021). Food by-products and food wastes: are they safe enough for their valorization? *Trends in Food Science & Technology* (volume 114, p.133-147). Consulta no dia 01 de outubro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224421003174>
- Alves, L. L., Andrade, D. F., Becker, L. V., Milani, L. I. G., Rezer, A. P. S., Richards, N. S. P. S. & Scipioni G. C. (2009). Aceitação sensorial e caracterização de frozen yogurt de leite de cabra com adição de cultura probiótica e prebiótico. *Ciência Rural* 39(9), 2595- 2600. Consulta no dia 25 de novembro de 2023.
- Alves, N. R., Gonçalves, C. M., Lima, F. A., Mariz, D. F. A., Silva, A. J. & Silva, S. G. A. (2019). Determinação das Propriedades Termo Físicas e Cor de Queijos Coalho Produzidos no Sertão da Paraíba. Volume 2. Consulta no dia 03 de maio de 2023. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/339371137_DETERMINACAO_D_AS_PROPRIEDADES_TERMOS_FISICAS_E_COR_DE_QUEIJOS_COALHO_PRODUCIDOS_NO_SERTAO_DA_PARAIBA
- Alves, P. C. A. (2018). Desenvolvimento de Novo Produto: Queijo fresco de vaca com conservante biológico. Tese apresentada à Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia e Inovação. Consulta no dia 02 de dezembro de 2022. Disponível em: <https://repositorio.ucp.pt/bitstream/10400.14/33911/1/Tese%20-%202011MAIO18v2.pdf>
- Alves, R., Brites, A., Carvalheiro, S., Conceição, P. A. M., Costa, L., Dias, S., Gomes, D., Noronha, F. J., Patrício, V., Pereira, D. C., Silva, O. A. & Viegas, J. (2012). Manual de Conservação e Transformação de Produtos de Origem Animal. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, Angola. Consulta no dia 27 de janeiro de 2023. Disponível em:

[https://www.researchgate.net/publication/259184206 Manual de Conservacao e Transformacao de Produtos de Origem Animal](https://www.researchgate.net/publication/259184206_Manual_de_Conservacao_e_Transformacao_de_Produtos_de_Origem_Animal)

- Amaral, L. A., Castro, L., Gomes, F., Henriques, M., Melo, F., Moreira, J., Pereira, C., Pinheiro, N., Ressurreição, S. & Santos, S. (2020). O projeto Lab2factory como motor da transferência de tecnologia do IPC para a sociedade (pp. 12-37). In Henriques, M. & Pereira, D. C. (2020). *Investigação Aplicada no Politécnico de Coimbra: Coletânea de Estudos Coordenação*. Consulta no dia 12 de janeiro de 2023. Disponível em: https://www.ipc.pt/ipc/wp-content/uploads/2021/05/Coletania3_Investigacao-Aplicada-2020.pdf
- Aquilanti, L., Bande-De León, Costanzo, D. G. M., C., Foligni, R., Gasparrini, M., Mannozi, C., Manzi, P., Mozzon, M., Orzinni, R., Raffaelli, N., Ritota, M., Tejada, L., Zamporlini, F. (2022). Potentialities of aqueous extract from cultivated *Onopordum tauricum* (Willd.) as milk clotting agent for cheesemaking. *Food Research Internacional* (volume 158). Consulta no dia 04 de outubro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996922006500>
- Arcuri, F. E., Brito, A. M., Brito, R. J., Lange, C. C., Silva, R. M. & Souza, N. G. (2021). *Agronegócio do Leite: Acidez Titulável* (Embrapa). Consulta no dia 10 de janeiro de 2023. Disponível em: <https://www.trabalhosfeitos.com/ensaios/Acidez-Do-Leite/59270571.html>
- Arvaniti, S. O., Gatidou, G., Samaras, Y., Stasinakis, S. A. & Thomaidis, S. N. (2019). Review on fresh and dried figs: Chemical analysis and occurrence of phytochemical compounds, antioxidant capacity and health effects. *Food Research Internacional* (volume 119, p. 244-267). Consulta no dia 02 de dezembro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096399691930064X>
- ASTM (1992). “Manual on descriptive analysis testing for sensory evaluation”, in ASTM Manual 13, R. C. Hootman, ed., West Conshohocken, PA: ASTM Internacional. Consulta no dia 02 de dezembro de 2022. Disponível em: [https://books.google.pt/books?id=leTKBQAAQBAJ&pg=PA186&lpg=PA186&dq=%E2%80%A2+ASTM+\(1992\).+%E2%80%9CManual+on+descriptive+analysis+testing+for+sensory+evaluation%E2%80%9D,+in+ASTM+Manu](https://books.google.pt/books?id=leTKBQAAQBAJ&pg=PA186&lpg=PA186&dq=%E2%80%A2+ASTM+(1992).+%E2%80%9CManual+on+descriptive+analysis+testing+for+sensory+evaluation%E2%80%9D,+in+ASTM+Manu)

[al+13,+R.+C.+Hootman,+ed.,+West+Conshohocken,+PA:+ASTM+Internaci
onal.&source=bl&ots=dmirOmcnhb&sig=ACfU3U3MLPjzX4THFR6FI8Y
W8xj8uw4Sfg&hl=pt-
PT&sa=X&ved=2ahUKEwiovaHWooqDAxURdaQEHetXDwoQ6AF6BAgh
EAM#v=onepage&q=%E2%80%A2%20ASTM%20\(1992\).%20%E2%80%9
CManual%20on%20descriptive%20analysis%20testing%20for%20sensory%
20evaluation%E2%80%9D%2C%20in%20ASTM%20Manual%202013%2C%2
0R.%20C.%20Hootman%2C%20ed.%2C%20West%20Conshohocken%2C%
20PA%3A%20ASTM%20Internacional.&f=false](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000538670300131R)

- Augustin, A. M. & Margetts, L. C. (2003). Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition) (p. 4694-4702). POWDERED MILK | Milk Powders in the Marketplace. Consulta no dia 25 de setembro de 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B012227055X00955X>
- Axelsson, L.T. (2004). Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In: Salminen, S., von Wright, A., Ouwehand, A. (Eds.), Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, Third Edition, Revised and Expanded. Marcel Dekker, New York, pp. 1-72. Consulta no dia 03 de abril de 2023.
- Bakhshi, D., Muçulmano, J., Pourghayoumi, M. & Rahemi, M. (2012). Effect of pollen source on quantitative and qualitative characteristics of dried figs (*Ficus carica L.*) cvs ‘Payves’ and ‘Sabz’ in Kazerun, Iran. Scientia Horticulturae (volume 147, p. 98-104). Consulta no dia 28 de outubro de 2022. Disponível em: [https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423812004098#
ib0045](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423812004098#bib0045)
- Bandeira, S.A.R.P. (2010). Desenvolvimento de um Queijo Fresco de Cabra com Contribuição da Fermentação. Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa. Consulta no dia 17 de janeiro de 2023. Disponível em: [https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/3142/1/TESE_Defenitivax.p
df](https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/3142/1/TESE_Defenitivax.pdf)

- Baptista, P. & Venâncio, A. (2003). Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos. Forvisão: Consultoria em Formação Integrada, LDA (ed., 1ª edição). Consulta no dia 01 de abril de 2023. Disponível em: https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/33398/1/document_2748_1.pdf
- Barbosa, M., Carvalho, T., Real, H., Rodrigues, T. & Vasconcelos, P. M. (2018). Queijos, dos frescos aos curados. In Craveiro, C. (2020, e-book n.º 48). Consulta no dia 12 janeiro de 2023. Disponível em: https://www.apn.org.pt/documentos/ebooks/e-book_queijo_8.pdf
- Barbosa, M., Carvalho, T., Real, H., Rodrigues, T. & Vasconcelos, P. M. (2016). Conhecer o Leite. In Craveiro, C. (2016, e-book APN n.º 41). Consulta no dia 12 de janeiro de 2023. Disponível em: https://www.apn.org.pt/documentos/ebooks/Ebook_Conhecer_o_Leite_Final.pdf
- Barreto, G. R. (2021). Desenvolvimento do Queijo Fresco com a Adição da Polpa do Fruto do Baobá (*Adansonia Digitata l.*). Universidade Nova de Lisboa Mestrado em Fitotecnologia Nutricional para a Saúde Humana. Consulta no dia 25 de fevereiro de 2023. Disponível em: https://run.unl.pt/bitstream/10362/151402/1/Barreto_2022.pdf
- Barufaldi, M. (2017). Queijos; coagulação, produção e o mau cheiro – Parte II. Consulta no dia 10 de fevereiro de 2023. Disponível em: <https://www.linkedin.com/pulse/queijos-coagula%C3%A7%C3%A3o-produ%C3%A7%C3%A3o-e-o-mau-cheiro-parte-ii-barufaldi/?originalSubdomain=pt>
- Bellocha, C., Díez-Lopéz, J. J., Flores, M., Manzanares, P. & Padilla, B. (2014) Potential impact of dairy yeasts on the typical flavour of traditional ewes and goats cheeses. *International Dairy Journal*, v. 35, n. 2, p. 122-129, 4. ISBN 0958-6946, 2014. Consulta no dia 13 de abril de 2023. Disponível em: <https://digital.csic.es/handle/10261/148437>
- Benucci, I., Esti, C. L., Liburdi, K., Lombardelli, C., & Spinelli, S. E., (2018). A preliminary study of continuous milk coagulation using *Cynara cardunculus* flower extract and calf rennet immobilized on magnetic particles. *Food Chemistry* (volume 239, pp. 157-164). Consulta no dia 10 de novembro de

2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814617310750>
- Berenguer-Murcia, A., El-Siar, H., Fernández-Lafuente, R., Morellon-Sterling, R. & Tavano, L. O. (2021). Ficin: A protease extract with relevance in biotechnology and biocatalysis. *International Journal of Biological Macromolecules* (volume 162, pp. 394-404). Consulta no dia 03 de dezembro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813020335844>
 - Berthier, F., Buchin, S., Delbes-Paus, C., Desmasures, N., Mallet, A., Montel, M-C. & Vuitton, A. D. (2014). Traditional cheeses: rich and diverse microbiota with associated benefits: review. *International Journal of Food Microbiology*, 177, p.136-154. Consulta no dia 20 dezembro de 2022. Disponível em: http://iccheesemongers.com/wp-content/uploads/montel_2014_revue_fromages_tradi.pdf
 - Bouma, J. & Schmidt, K. (1992). Estimating Shelf-Life of Cottage Cheese Using Hazard Analysis. *Journal of Dairy Science*, 75(11), 2922–2927. Consulta no dia 13 de dezembro de 2022. Disponível em: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78054-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78054-0)
 - Brazaca-Caniatti, G. S., Dea, D. C. R., Porto, E., Sangaletti, N., Silva, V. M. & Yagasaki, A. C. (2009). Estudo da vida útil de Queijo Minas. *Food Science and Technology*. Consulta no dia 03 de fevereiro de 2023. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/250045573_Estudo_da_vida_util_d_e_queijo_Minas
 - Brule, G. e Lenoir, J. (1987). A coagulação do leite. In *O Queijo* (A. Eck coord., ed.) Vol. 1. Publicações Europa - América, Mem Martins. Consulta no dia 03 de outubro de 2022.
 - Bruno, A. M., Caffini, O. N., Errasti, E. M., Lazza, M. C., López, I. M. L. & Pardo, F. M. (2009). Milk clotting and proteolytic activity of an enzyme preparation from *Bromelia hieronymi* fruits. *LWT: Food Science & Technology* (volume 43, nº 4, p. 695-701). Consulta no dia 11 de outubro de 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643809003247>

- Buriti, F. C. A., Cardarelli, H. R. & Saad, S. M. I. (2007). Biopreservation by *Lactobacillus paracasei* in coculture with *Streptococcus thermophilus* in potentially probiotic and synbiotic fresh cream cheeses. *Journal of Food Protection* 70, 228-235. Consulta no dia 14 de março de 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17265887/>
- Camacho, P. C. (2017). Meios de cultura utilizados em microbiologia. DICA's: Informações da Agricultura e do Desenvolvimento Sustentável. Consulta no dia 25 de fevereiro de 2023. Disponível em: <https://dica.madeira.gov.pt/index.php/outros-temas/diversos/1825-meios-de-cultura-utilizados-em-microbiologia>
- Canada, J. S. (2001). Caracterización sensorial y físico-química del Queijo Serpa. Cáceres. Espanha. Universidad de Extremadura (Facultad de Veterinaria) Consulta no dia 21 maio de 2023. Disponível em: <http://hdl.handle.net/20.500.12207/4392>
- Canha, R. (2011). Blog Ricardo Canha. Modelos de Cor. Consulta no dia 05 de maio de 2023. Disponível em: <http://ricardocanha.blogspot.com/2011/02/modelos-de-cor.html>
- Carmo, L. J. (2018). Manual de Boas Práticas em Análise Sensorial. Dissertação de Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar. Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viseu. Consulta no dia 23 de março de 2023. Disponível em: <https://repositorio.ipv.pt/bitstream/10400.19/5325/1/CARMO%20J%C3%A9ssica%20Lopes%20do%20Manual%20de%20Boas%20Pr%C3%A1ticas%20em%20An%C3%A1lise%20Sensorial.pdf>
- Carvalho, F. A., Furtado, M. M. & Paula, J. C. J. (2009). Princípios Básicos de Fabricação de Queijo: Do Histórico à Salga. *Rev. Inst. Latic.* “Cândido Tostes”, mar/jun, nº 367/368, volume 64, p. 19-25. Consulta no dia 08 de janeiro de 2023. Disponível em: https://www.lareferencia.info/vufind/Record/BR_783686cabaacb17fa78711326fc7802d/Details
- Coelho, L. D. R. C. M. (2018). Avaliação de populações espontâneas de cardo-do-coalho (*Cynara Cardunculus*) numa perspetiva de valorização da espécie. Dissertação de Mestrado em Agricultura Sustentável. Escola Superior Agrária

de Elvas do Instituto Politécnico de Portalegre. Consulta no dia 02 de dezembro de 2022. Disponível em:

<https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/28691/1/Avalia%C3%A7%C3%A3o%20de%20popula%C3%A7%C3%B5es%20espontaneas%20de%20cardo%20%28cynara%20cardunculus%20L.%29%20numa%20perspetiva%20de%20valoria%C3%A7%C3%A3o%20da%20sua%20cultura.pdf>

- Cogan, M. T., Fox, F. P., Guinee, P. T. & McSweeney, L. H. P. (2000). Fundamentals of Cheese Science. Second Edition. Gaithersburg: Aspen Publishers. ISBN 978-1-4899-7679-6. Consulta no dia 03 de novembro de 2022. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Atef-Abou-El-Nour/publication/286119901_CHEESES_Processed_Cheese/links/60e2e4eca6fdccb74506d072/CHEESES-Processed-Cheese.pdf
- Corel (2012). Entender modelos de cores. Consulta no dia 08 de janeiro de 2023. Disponível em: http://product.corel.com/help/CorelDRAW/540240626/Main/BR/Doc/wwhelp/wwhimpl/common/html/wwhelp.htm?context=CorelDRAW_Help&file=CorelDRAW-Understanding-color-models.html
- Costa, S. C. P. I. (2021). Desenvolvimento de um queijo de vaca curado com adição de licor de figo. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia, da Universidade de Lisboa. Consulta no dia 11 de outubro de 2022. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/23856/1/Tese-In%C3%AAs%20Costa.pdf>
- Cunha, A. C. M. (2017). Execução de ensaios microbiológicos nas áreas alimentar, ambiental e técnica em contexto empresarial. Faculdade de Ciências, da Universidade do Porto. Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar. Consulta no dia 13 de março de 2023. Disponível em: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/110649/2/250459.pdf>
- Custódio, M. D. I. (2014). Produção de derivados de leite: “Omavele” Aromatizado e Queijo Picante. Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia da Ciência Animal. Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Bragança. Consulta no dia 13 de março de 2023. Disponível em:

[https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/11426/1/Cust%C3%B3dio In oque.pdf](https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/11426/1/Cust%C3%B3dio%20In%20oque.pdf)

- Dejonghe, W., Esposito, M., Mariniello, L., Pierro, D. P. & Porta, R. (2016). Food Chemistry (volume 204, pp. 115-121). Enzymatic milk clotting activity in artichoke (*Cynara scolymus*) leaves and alpine thistle (*Carduus defloratus*) flowers. Immobilization of alpine thistle aspartic protease. Consulta no dia 23 de novembro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616302217#b0165>
- Desta, W., Gebrehiwot, S. & Shumbahri, M. (2020). Application of *Ficus carica* L. and *Solanum incanum* L. Extracts in Coagulation of Milk: The Case of Traditional Practice in Ab'ala Area, Afar Regional State, Ethiopia. National Library of the Medicine (Biochemistry Research Internacional, 2020-9874949). Consulta no dia 16 de dezembro de 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7166260/>
- DGAV (2020). PCOL 2020-2021. Plano de Controlo Oficial do Leite. Consulta no dia 07 de setembro de 2023. Disponível em: <https://www.dgav.pt/wp-content/uploads/2021/04/PCOL-2020-2021-Rev.-01-25-06-2020-1.pdf>
- Dias, D. J. B. (2020). Estudo da Qualidade Microbiológica de Produtos de Charcutaria. Relatório de Estágio para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Alimentar. Escola Superior De Biotecnologia, da Universidade Católica do Porto. Consulta no dia 04 de fevereiro de 2023. Disponível em: <https://repositorio.ucp.pt/bitstream/10400.14/32882/1/Tese%20-%20Bruno%20Jos%c3%a9%20Duarte%20Dias%20.pdf>
- Dias-Pereira, S., Ferreira-Malfeito, M., Loureiro, V., Marinho, A. & Potes, E. M. (2000). Characterisation of yeast flora isolated from an artisanal Portuguese ewes' cheese. International Journal of Food Microbiology (volume 60, Issue 1, pages 55-63). Consulta no dia 09 de junho de 2023 Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160500003238?via%3Dihub>
- Downes, F. P. & Ito, K. (2001). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 4th ed. Washington: American Public Health Association (APHA). Consulta no dia 20 de março de 2023.

- Duarte, A. (2022). Jardinagem: Tipos de figueira: espécies, como cuidar e mais. Portal Vida Livre. Consulta no dia 27 de novembro de 2022. Disponível em: <https://portalvidalivre.com/articles/761>
- Eat Clean, Get Clean (2015). Que queijo fresco comprar? Consulta no dia 10 de julho de 2023. Disponível em: <https://eatcleangetcleanbydc.wordpress.com/2015/06/02/que-queijo-fresco-comprar/>
- Egito, A. S., Gaillard, J., Girardet, J.M., Humbert, G., Laguna, L.E., Miclo, L., Molle, D. & Poirson, C. (2007). Milk clotting activity of enzyme extracts from sunflower and albizia seeds and specific hydrolysis of bovine K-casein. International Dairy Journal (Volume 17, p. 816-825). Consulta no dia 13 de fevereiro de 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694606002214>
- Eurostat (2019). Where does our cheese come from? Consulta no dia 20 de maio de 2023. Disponível em: <https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/edn-20190119-1>
- Feigenbaum, I. J. & Netzer, A. (1967). Milk-Clotting Activity of Proteolytic Enzymes. Department of Biochemistry, Bar-Ilan University, Ramat-Gan and The Hebrew University, Jerusalem, Israel. Consulta no dia 06 de outubro de 2022. Disponível em: [https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(69\)86498-2/pdf](https://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(69)86498-2/pdf)
- Fernandes, E. L. D. (2013). Composição química e propriedades organolépticas do leite de cabra de raça Charnequeira. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Alimentar – Processamento de Alimentos. Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa. Consulta no dia 20 de novembro de 2022. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/5675/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Duarte%20Fernandes.pdf>
- Fernandes, F. (2017). Escherichia coli em queijos produzidos com leite cru. Relatório de estágio apresentado à Escola Superior Agrária de Coimbra, do Instituto Politécnico de Coimbra para obtenção do grau de mestre em Engenharia Alimentar. Consulta no dia 11 de janeiro de 2023. Disponível em:

https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/20734/1/F%C3%A1bio_Fernandes_MEAL_Relat%C3%B3rioEst%C3%A1gio_2017_3.pdf

- Fernandes, J. (2013). Biotecnologia: Produção de queijo: origem dos coalhos. AGROTEC (revista técnico-científica agrícola n.º 8, 3º trimestre). Consulta no dia 13 de fevereiro de 2023. Disponível em: https://digitalis-dsp.uc.pt/bitstream/10316.2/33613/1/Agrotec8_artigo33.pdf
- Fernandes, M. C. A. (2015). Boas Práticas em Indústrias Queijeiras em Portugal. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa. Consulta no dia 18 de fevereiro de 2023. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/10127/1/Boas%20Pr%C3%A1ticas%20em%20Industrias%20Queijeiras%20em%20Portugal.pdf>
- Figueiredo, C. (2010). Relatório de Estágio: Aplicação de Plantas Aromáticas e Óleos Essenciais Encapsulados em Produtos Láteos. Curso Especialização Tecnológica em Qualidade Alimentar. Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Coimbra. Consulta no dia 10 de fevereiro de 2023. Disponível em <https://docplayer.com.br/5969966-Cristiana-figueiredo-no-20853002.html>
- Figueiredo, P. (2001). Indústrias Agro-alimentares. Livro de apoio à cadeira de Indústrias agro-Alimentares [pp. 1-35]. Consulta no dia 04 de dezembro de 2022. Disponível em: <http://www.pfigueiredo.org/BookIAA.pdf>
- Franco, J. (2022). Revista Jardins – Frutícolas: FRUTEIRA DO MÊS: FIGO. Consulta no dia 08 de outubro de 2023. Disponível em: <https://revistajardins.pt/tudo-sobre-a-figueira/>
- Fu, Y., Mon, M. A., Shi, Y., Wang, C., Wang Y., Yang, X. & Zhang, Y. (2018). The genus Ficus (Moraceae) used in diet: Its plant diversity, distribution, traditional uses and ethnopharmacological importance. Journal of Ethnopharmacology (Volume 226, p. 185-196). Consulta no dia 13 de dezembro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874118300023>
- Goettems, J. E., Mozer, E., Piletti, R., Sangali, E. & Schneider, F. M. (2016). Controle de Qualidade do Leite, uma Abordagem Sobre Produção, Manejo e Higiene, Brasil. Consulta a 05 de janeiro de 2023. Disponível em: https://eventos.uceff.edu.br/eventosfai_dados/artigos/inovagro2017/792.pdf

- Guan, R., Guochao, J., Liu, X., Yuanfeng, W., YuChen, M. & Zhang, Y. (2021). Advances in research on calf rennet substitutes and their effects on cheese quality. *Food Research Internacional* (volume 149). Consulta no dia 05 de novembro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996921006037>
- Hajam, A. T. & Saleem, H. (2022). Phytochemistry, biological activities, industrial and traditional uses of fig (*Ficus carica*): A review. *Chemico-biological Interactions* (volume 368). Consulta no dia 18 de outubro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009279722004422>
- Hanif, A. M., Hanif, M., Khan, O., Khan, S., Rehman, R., Shumaila, S. (2019). Novel sources for drug discovery (p. 273-286). Chapter 21: Figs. *Medicinal Plants of South Asia*. Consulta no dia 20 de outubro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081026595000215>
- HPA. 2009. Guidelines for assessing the microbiological safety of ready-to-eat foods. 1st: London. Consulta no dia 12 de junho de 2023.
- ICMSF (1996). Brucella. *Microbiological Specifications of Food Pathogens*. Londres, Blackie Academic & Professional. *Microorganisms in Foods*, vol. 5, pp. 36-43. Consulta no dia 15 de abril de 2023. Disponível em: <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/brucella.aspx>
- ICMSF (1996). Shigella. *Microbiological Specifications of Food Pathogens*. Londres, Blackie Academic & Professional. *Microorganisms in Foods*, vol. 5, pp. 280-298. Consulta no dia 15 de abril de 2023. Disponível em: <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/shigella-disenteriae.aspx>
- INSA Doutor Ricardo Jorge (2019). Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar. *Valores-guia*. Consulta no dia 15 de março de 2023. Disponível em: https://www.insa.min-saude.pt/wp-content/uploads/2019/12/INSA_Valores-guia.pdf
- INSA Doutor Ricardo Jorge (2023). *Composição dos Alimentos. Queijo Fresco meio gordo*. Consulta no dia 20 de agosto de 2023. Disponível em: <http://portfir.insa.pt/foodcomp/food?24118>

- Konica Minolta (2006). Entendendo o Espaço de Cor L*a*b*. Consulta no dia 12 de fevereiro de 2023. Disponível em: <https://sensing.konicaminolta.us/br/blog/entendendo-o-espaco-de-cor-lab/>
- Kumar, A. & Sasmal, S. (2020). Rheological and physico-chemical properties of milk gel using isolate of pumpkin (*Cucurbita Moschata*) seeds: A new source of milk clotting peptidase. Food Hydrocolloids (volume 106). Consulta no dia 08 de novembro de 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0268005X19313876>
- Lacasse, D. (1995). Introduction à la Microbiologie Alimentaire. Les ÉDITIONS Saint-Martin. ISBN: 972-771-102-2, p.282-287. Consulta no dia 15 de julho de 2023.
- Leitão, B. E. S. (2017). DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS À BASE DE QUEIJO COM FRUTOS VERMELHOS. Instituto Politécnico de Viseu. Escola Superior Agrária de Viseu. Dissertação do Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar. Consulta no dia 05 de março de 2023. Disponível em: https://repositorio.ipv.pt/bitstream/10400.19/4624/1/LEIT%c3%83O%2c%20Soraia%20Esperan%c3%a7a%20B%c3%a1rrios_Desenvolvimento%20de%20Oprodutos%20%20c3%a0%20base%20de%20queijo%20com%20frutos%20vermelhos.pdf
- Lopes, V. M. J. (2022). Desenvolvimento e otimização da produção de queijo fresco com ervas. Mestrado em Engenharia Alimentar. Escola Superior de Tecnologia e Gestão do Instituto Politécnico de Viana de Castelo. Consulta no dia 10 de março de 2023. Disponível em: http://repositorio.ipvc.pt/bitstream/20.500.11960/2770/1/Joana_Lopes.pdf
- Macedo, F. C. R. (2018). Efeito das Características Físico-Químicas no Comportamento Reológico dos Queijos Paiva. Tese para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia e Inovação. Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica Portuguesa. Consulta no dia 21 de março de 2023. Disponível em: <https://repositorio.ucp.pt/bitstream/10400.14/33838/1/202727912.pdf>
- Martins, P. P. A. (2012). Influência da acidificação na modificação das características do queijo produzido por coagulação enzimática. Contribuição para o desenvolvimento de novos produtos. Dissertação para obtenção do grau

de mestre em Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia, da Universidade de Lisboa. Consulta no dia 02 de março de 2023. Disponível em: https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/5256/1/Tese%20Patricia_VE_RSAO_FINAL.pdf

- Moreira, D. A. R. (2019). Universidade Católica do Porto. Escola Superior de Biotecnologia. Estudo do desenvolvimento de um novo queijo fresco com alto teor em proteína e baixo teor em gordura. Dissertação de Mestrado de Engenharia Alimentar. Consulta no dia 3 de fevereiro de 2023. Disponível em: https://repositorio.ucp.pt/bitstream/10400.14/33555/1/Disserta%20a7%20a3o_Rute_Moreira.pdf
- Moreira, M. P. C. (2011). Desenvolvimento de Metodologias Analíticas para Queijos: Estudo de Caso: Queijos da Beira Interior. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar. Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa. Consulta no dia 14 de fevereiro de 2023. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/4065/1/Tese%20de%20Mestrado%20DEFINITIVA%20C1%20C3%A1udia.pdf>
- Mourão, F. (2013). Queijo Coalho Brasil: A importância e origem dos coalhos na produção de queijos. Consulta no dia 16 de dezembro de 2022. Disponível em <https://www.quejocoalhobrasil.com/a-importancia-e-origem-dos-coalhos-na-producao-de-queijos/>
- Noronha, F. J. (2003). Análise Sensorial – Metodologia. Material de apoio às aulas de Análise Sensorial lecionadas por João Freire de Noronha. Consulta no dia 26 de abril de 2023. Disponível em: <https://docplayer.com.br/75934111-Analise-sensorial-metodologia.html>
- Oliveira, T. F. M. (2010). Evolução ao longo do tempo de vida útil do teor microbiológico de queijos frescos mantidos sob refrigeração doméstica. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa. Consulta no dia 25 de julho de 2023. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.5/2266>
- Penas, M. F. A. (2018). Efeito da formulação e da conservação nas propriedades de extratos de flor de cardo para fabrico de queijo. Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Alimentar. Instituto

Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa. Consulta no dia 11 de outubro de 2022. Disponível em: https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/17841/1/TESEFINAL_AndreiaPenasVers%C3%A3oDefinitiva.pdf

- Pina, S. I. (2022). Estudo da coagulação de leite de ovelha com a utilização de cardo e de coalho. Dissertação para obtenção de grau de Mestrado em Engenharia Alimentar. Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Beja. Consulta no dia 26 de janeiro de 2023. Disponível em: https://repositorio.ipbeja.pt/bitstream/20.500.12207/5780/1/Ivanilda%20Sanches_Disserta%c3%a7%c3%a3o%20de%20mestrado_PDFa.pdf
- Pinto, G. P. F. M. (2011). Avaliação da Qualidade Físico-Química e Microbiológica: De Leite Pasteurizado Produzido Por Micro Empresas Em Alagoas, Brasil. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa. Consulta no dia 03 de março de 2023. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/4083/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20Mestrado%20Marta%20Guedes%20Pinto.pdf>
- Qualfood (s/d). Códigos. Base de dados de Qualidade e Segurança Alimentar, Ambiental e HST. Consulta no dia 10 de julho de 2023. Disponível em: <https://www.qualfood.com/rotulagem/rotulos-como-interpretar/codigos>
- Ray, B. (2004). *Yersiniosis by Yersinia Enterocolitica*. Fundamental Food Microbiology. CRC PRESS, pp. 378-380. Consulta no dia 19 de abril de 2023. Disponível em: <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/yersinia-.aspx>
- Santiago, D. L. (2017). Avaliação da aplicação de atmosfera modificada para o aumento da vida útil do Requeijão. Dissertação de mestrado para a obtenção do grau de Mestre em Inovação e Qualidade na Produção Alimentar. Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco. Consulta no dia 10 de março de 2023. Disponível em: <https://repositorio.ipcb.pt/bitstream/10400.11/5594/1/tese%20mestrado%20FINAL%2030-06.pdf>
- Santos, C. A. V. E. (2015). Qualidade Microbiológica e Físico – Química de Queijo Fresco de Leite de Cabra produzido em Cabo Verde Dissertação de

Mestrado em Segurança Alimentar, apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. Consulta no dia 12 de janeiro de 2023. Disponível em: <https://estudogeral.uc.pt/bitstream/10316/30369/1/Edson%20Santos.pdf>

- Sbhatu, B. D., Tekle, T. H. & Tesfamariam, H. K. (2020). *Ficus palmata* FORSKÅL (BELES ADGI) as a source of milk clotting agent: a preliminar research. BMC Research Notes 13 (article numbers 446). Consulta no dia 06 de novembro de 2022. Disponível em: <https://bmcresearchnotes.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13104-020-05293-x>
- Serol, L. C. P. (2017). Caracterização microbiológica quantitativa e qualitativa de queijo Serpa: Estudo prévio para o desenvolvimento de “Starters” autóctones. Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar. Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Beja. Consulta no dia 04 de abril de 2023. Disponível em: <https://repositorio.ipbeja.pt/handle/20.500.12207/4573>
- Silva, S. M. (2013). Comparação de Métodos Analíticos de referência: Determinação da Humidade do Leite Em pó. Escola Superior de Tecnologia e Turismo do Mar do Instituto Politécnico de Leiria. Consulta no dia 11 de fevereiro de 2023. Disponível em: <https://www.proquest.com/openview/268448cf2f471536844769aa9c9941d7/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2026366&diss=y>
- Silva A. (2015). Introdução à análise sensorial de géneros alimentícios e sua aplicação na indústria alimentar. Universidade do Porto. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar. Relatório final de estágio, no Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Consulta no dia 01 de setembro de 2023. Disponível em: <https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/78916/2/34982.pdf>
- Tenreiro, C. I. M. (2014). Estudo das Propriedades Físico-Químicas do Queijo Serra da Estrela. Dissertação de Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar. Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viseu. Consulta no dia 26 de março de 2023. Disponível em: <https://repositorio.ipv.pt/bitstream/10400.19/3301/1/TENREIRO%20Ma%20rlene%20In%20C3%AA%20Caseiro%20Estudo%20das%20propriedades%20f%20C3%ADsico-qu%20C3%ADmicas%20do%20queijo%20Serra%20da%20Estrela.pdf>

- Tesfaw, T. A. (2021). Extraction, Partial Purification And Characterization Of Milk- Clotting Enzyme From Local Coagulants On The Yield Of Cheese Using Cow Milk (volume 94, pp. 5-16). Consulta no dia 26 de outubro de 2022. Disponível em: <https://www.researchsquare.com/article/rs-654291/v1>
- Veiga, T. N. S. (2012). Qualidade Microbiológica e Físico-Química de Queijos Comercializados em Portugal. Dissertação de Mestrado em Segurança Alimentar. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa. Consulta no dia 20 de janeiro de 2023. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/4844/1/Qualidade%20microbiologica%20e%20fisico-quimica%20de%20queijos%20comercializados%20em%20Portugal.pdf>
- Zhao, M. (2003). The Design of Haccp Plan For a Small-scale Cheese Plant. A Research Paper Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master of Science Degree In Food and Nutritional Sciences. The Graduate School University of Wisconsin-Stout. Consulta no dia 02 de novembro de 2022. Disponível em: <https://minds.wisconsin.edu/bitstream/handle/1793/41145/2003zhaom.pdf?sequence=1>

Listagem de NP e ISO:

- Decreto-Lei n.º 62/2017, de 09 de junho, que estabelece o regime aplicável à composição, rotulagem e comercialização do leite, dos produtos derivados do leite e aos produtos extraídos do leite, transpondo a Diretiva (UE) n.º 2015/2203;
- ISO 4316:2002 – Enumeração de *Escherichia coli*. Técnica de contagem de colónias a 44°C;
- ISO 4833-1:2013 – Microbiologia da cadeia alimentar. Método horizontal para enumeração de microrganismos. Parte 1: Contagem de colónias a 30 °C pela técnica de pour plate;
- ISO 5764:2009 – Leite. Determinação do ponto de congelamento. Método do crioscópio do termistor (Método de referência);
- ISO 6579-1:2017 – Microbiologia da cadeia alimentar. Método horizontal de deteção, enumeração e sorotipagem de *Salmonella*. Parte 1: Deteção de *Salmonella* spp.;

- ISO 6888-1:2021 – Microbiologia da cadeia alimentar. Método horizontal para enumeração de estafilococos coagulase positiva (*Staphylococcus aureus* e outras espécies). Parte 1: Método utilizando meio de ágar Baird-Parker;
- ISO 7889:2003 – Enumeração de microrganismos característicos. Técnica de contagem de colônias a 37°C;
- ISO 9232:2003 – Identificação de microrganismos característicos (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*);
- ISO 11035:1994 – Análise Sensorial: Identificação e seleção de descritores para o estabelecimento de um perfil sensorial por meio de uma abordagem multidimensional;
- ISO 11036:2020 - Sensory analysis. Methodology. Texture Profile;
- ISO 11290-2:2017 – Microbiologia da cadeia alimentar. Método horizontal para detecção e enumeração de *Listeria monocytogenes* e de *Listeria* spp. Parte 2: Método de enumeração;
- ISO 21527-2:2008 – Microbiologia de alimentos para consumo humano e animal. Método horizontal de enumeração de leveduras e bolores. Parte 2: Técnica de contagem de colônias em produtos com atividade de água menor ou igual a 0,95;
- NP 452:1986 – Leites. Exame microscópio do sedimento;
- NP 454:1983 – Leites. Ensaio preliminares de análise. Impurezas em suspensão (prova de filtração);
- NP 456:1983 – Leites. Ensaio preliminares de análise. Prova pelo azul de metileno;
- NP 462:1983 – Leites. Contagem de bactérias termorresistentes;
- NP 463:1984 – Leites. Contagem de bactérias termófilas;
- NP 469:1983 – Leites. Determinação da matéria gorda (Técnica de Gerber). Processo corrente;
- NP 470:1983 – Leites. Determinação da acidez;
- NP 473:1983 – Leites. Determinação da densidade relativa. Processo de referência
- NP 474:1983 – Leites. Determinação da densidade relativa. Processo corrente;
- NP 475:1983 – Leites. Determinação do resíduo seco e resíduo seco isento de matéria gorda;
- NP 477:1983 – Leites. Determinação da cinza total;
- NP 573:1979 – Leite comum. Características;

- NP 577:1987 – Microbiologia alimentar. Leites, leitelhos e soros, líquidos e em pó. Pesquisa de bactérias esporuladas anaeróbias. Técnica de Weinzirl;
- NP 580:1970 - Determinação do resíduo seco e do resíduo seco isento de matéria gorda. Processo corrente;
- NP 1935:1986 – Microbiologia alimentar. Leites e produtos lácteos. Pesquisa de bactérias coliformes;
- NP 1986:1991 – Leites. Determinação do teor de proteína bruta. Técnica de Kjeldahl;
- NP 2307:1987 – Microbiologia Alimentar – Regras gerais para contagem de microrganismos psicotróficos;
- NP 4258:1993 – Análise sensorial. Directivas gerais para a concepção dos locais apropriados para análise;
- Portaria n.º 73/90, de 01 de fevereiro, que estabelece disposições sobre as características, classificação, acondicionamento, rotulagem e condições de conservação do queijo;
- Regulamento (UE) n.º 1169/2011, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 25 de outubro, relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios, que altera os Regulamentos (CE) n.º 1924/2006 e n.º 1925/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho e revoga as Diretivas 87/250/CEE da Comissão, 90/496/CEE do Conselho, 1999/10/CE da Comissão, 2000/13/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, 2002/67/CE e 2008/5/CE da Comissão e o Regulamento (CE) n.º 608/2004 da Comissão;
- Regulamento (CE) n.º 1441/2007 da Comissão, de 5 de Dezembro, que altera o Regulamento (CE) n.º 2073/2005, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios;

9. Anexos:

9.1. Anexo I: Exemplar de folha de prova sensorial:

Questionário no âmbito da tese de Mestrado de Gastronomia:

Queijo fresco com a utilização de um subproduto de figueira como coagulante:

Data:

Idade:

Com este questionário pretende-se avaliar o grau de satisfação e aceitação da amostra apresentada. Pede-se ao provador que observe, cheire, deguste a amostra e, de seguida, avalie a amostra, assinalando com um X a opção que lhe parece mais indicada.

Aceitabilidade (1 – extremamente desagradável) (5 – extremamente agradável)	1	2	3	4	5
Cheiro					
Aparência					
Cor					
Adstringência					
Aroma					
Sabor					
Textura					
Apreciação Global					

Compraria a amostra que lhe foi apresentada? Sim Não

Comentários Finais:

Desde já, agradecemos a sua colaboração nesta prova!

9.2. Anexo II: Experiências elaboradas com outros coalhos vegetais:

A tabela 29 ilustra os estudos com frutos de *Solanum incanum* (Desta *et al.*, 2020) sementes sem casca de *Moringa oleifera* (Abdeen *et al.*, 2011; Ahmed *et al.*, 2009, citado por Dejonghe *et al.*, 2016; Egito *et al.*, 2007; El-mazar *et al.*, 2012) e sementes maduras de *Cucurbita maxima*, (Kumar & Sasmal, 2020) respetivamente.

Tabela 29 Experiências elaboradas com outros coalhos de origem vegetal

Planta	Fruto (seco a 40 °C e moído em pó) de <i>Solanum incanum</i>	Extração de óleo a frio de sementes sem casca secas ± 20 °C e moídas de <i>Moringa oleifera</i>	Sementes maduras (secas e moídas finamente) de <i>Cucurbita maxima</i>
Biomassa / solvente	10 g fruto / 200 ml água destilada (em maceração)	-----	Sementes em tampão acetato (0,01 M e pH 4.5)
Método / condição	-----	4 °C (até se proceder à sua extração)	48 h por -20 °C (em maceração)
Solução de extração	Sulfato de amónio sólido a 80% (p/v) de saturação (0,5 h em gelo) e solução de tampão fosfato (0,02 M, pH 6)	Tampão de acetato de sódio (pH 5) Tampão Tris-HCL (pH 5) Tampão fosfato (pH 5)	-----
Incorporação de extrato no leite	2 ml de extrato por 10 ml leite (20%)	-----	1 ml de extrato por 10 ml leite (10%) + CaCl ₂
Temperatura de coagulação	37 °C	60 °C (aplicado a todas as soluções de extração)	54 °C

No estudo da tabela 30, foram preparados extratos da flor de *Cynara cardunculus* seca e quatro soluções de extração diferentes e avaliadas as respetivas ações coagulantes.

Tabela 30 Experiência com flor de *Cynara cardunculus* em queijo fresco

Planta	Condição/método	Soluções de extração (100 ml)	Extrato no leite	Autor
Flor seca de <i>Cynara cardunculus</i>	4 °C por 45, 90 e 135 dias, respetivamente (em maceração)	Solução de citrato de sódio a 50 mM Solução de tampão acetato (pH 5,5) Solução de ácido cítrico a 50 mM	2% de sorbato de potássio	Penas (2018) Pina (2022)
		Solução de tampão citrato (pH 3) Solução de ácido cítrico a 50 mM Solução de citrato de sódio a 50 mM	2% de sorbato de potássio	
		Solução de cloreto de sódio a 5% (m/v)	2% de sorbato de potássio	
		Solução de cloreto de sódio a 20% (m/v)	2% de sorbato de potássio	

9.3. Anexo III: Experiências com espécies do género *Ficus*:

A tabela 31 reflete algumas das experiências desenvolvidas com coalhos vegetais do género *Ficus*, nomeadamente a biomassa de folhas e caules de *Ficus palmata* FORSKÅL, folhas e caules frescos de *Ficus carica* e fruto verde de *Ficus johannis*.

Tabela 31 Experiências preparadas com diferentes espécies do género *Ficus*

Planta	Biomassa de folhas e caules de <i>Ficus palmata</i> FORSKÅL (seca a 45 °C e moída em pó)	Folhas e caules frescos de <i>Ficus carica</i> (cortados em pequenos pedaços)	Fruto verde de <i>Ficus johannis</i> (seco a 40 °C e moído em pó)
Biomassa / solvente	150 g de biomassa / 250 ml de água destilada	45 g de folhas e caules / 180 ml de água destilada	10 g de fruto / 200 ml de água destilada
Método / condição	Agitação por 15 a 20 minutos, filtração e centrifugação a 4000 rpm por 10 minutos	Estado fresco a ± 20 °C 4 °C por 12 meses liofilizado e refrigerado a 4 °C por 12 meses	(em maceração) -----
Solução de extração	-----	-----	Sulfato de amónio sólido 80% (p/v) de saturação + 0,5 h em gelo + tampão fosfato (0,02 M, pH 6)
Incorporação de extrato no leite	2,5 / 5 / 7,5 / 10 g de biomassa por cada 50 ml de leite até 500 ml	2 ml de extrato em 100 ml de leite (2%)	2 ml de extrato por 10 ml de leite (20%)
Temperatura de coagulação	-----	35 °C	37 °C
Autor	Sbhatu <i>et al.</i> (2020)	Aloui <i>et al.</i> (2021)	Desta <i>et al.</i> (2020)
Resultados	Ineficaz na biomassa / solvente de 2,5 a 7,5 g com leite superior a 200 ml	-----	Coagulação eficaz quando adicionado 20% de extrato ao leite