







ProDOP Serra da Estrela

Proteção, Promoção e Potencialização do Queijo Serra da Estrela

Entregável 2.1

Relatório Técnico: Sistema de unidose do queijo Serra da Estrela otimizado

Parceiros envolvidos na tarefa 2.1 Associação BLC3 - Campus de Tecnologia e Inovação (responsável)

Data de Início da Tarefa 2.1 1 de agosto de 2018

Data de Conclusão da Tarefa 2.1 31 de julho de 2022













Índice

Índice de Figuras	3
Índice de Tabelas	
Introdução	7
Execução da tarefa	13
Estudo de tempo de prateleira preliminar	15
Estudo do tempo de prateleira	22
Bibliografia	45















Índice de Figuras

Figura 1. Registo fotográfico de amostras de queijo Serra da Estrela sujeitas ao estudo de
tempo de prateleira: a) Embalamento em unidose à atmosfera normal e b) Embalamento a
vácuo16
Figura 2. Aplicação do revestimento com extrato antioxidante nas unidoses de queijo Serra da
Estrela DOP
Figura 3. Condições de embalamento aplicado nas unidoses de queijo Serra da Estrela DOP
sujeitas ao estudo do tempo de prateleira, em que A é o embalamento à atmosfera normal
(selagem) e B é o embalamento à atmosfera modificada (vácuo)
Figura 4. Novo estudo de tempo de prateleira com unidoses de queijo da Serra da Estrela
Amanteigado seladas (A) e embaladas a vácuo (B) com revestimento incorporado com extrato
de Mentha suaveolens















Índice de Tabelas

Tabela 1. Amostras sujeitas ao estudo do tempo de prateleira14
Tabela 2. Análises físico-químicas e respetivos métodos
Tabela 3. Análises microbiológicas e respetivos métodos
Tabela 4. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas
vácuo e armazenadas a 4 °C1
Tabela 5. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas en unidoses e armazenadas a 4 °C
Tabela 6. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas vácuo e armazenadas a 4 °C
Tabela 7. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas en unidoses e armazenadas a 4 °C
Tabela 8. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas vácuo e armazenadas a 4 °C
Tabela 9. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas en unidoses e armazenadas a 4 °C
Tabela 10. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas vácuo e armazenadas a 4 °C
Tabela 11. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas en unidoses e armazenadas a 4 °C
Tabela 12. Evolução das unidoses queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado durante o estudo de tempo de prateleira
Tabela 13. Evolução das unidoses queijo Serra da Estrela DOP Curado durante o estudo de tempo de prateleira
Tabela 14. Resultados obtidos para as análises químicas realizadas durante o estudo de tempe
de prateleira do queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado
Tabela 15. Resultados obtidos para as análises químicas realizadas durante o estudo de tempo
de prateleira do queijo Serra da Estrela DOP Curado20















Politécnico de Coimbra Universidade do Minho
Tabela 16. Resultados obtidos para o parâmetro da cor durante o estudo de tempo de
prateleira do queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado27
Tabela 17. Resultados obtidos para o parâmetro da cor durante o estudo de tempo de
prateleira do queijo Serra da Estrela DOP Curado28
Tabela 18. Resultados obtidos para a textura durante o estudo de tempo de prateleira do
queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado29
Tabela 19. Resultados obtidos para a textura durante o estudo de tempo de prateleira do
queijo Serra da Estrela DOP Curado29
Tabela 20. Evolução dos parâmetros microbiológicos nas unidoses do queijo Serra da Estrela
DOP Amanteigado ao longo do estudo do tempo de prateleira
Tabela 21. Evolução dos parâmetros microbiológicos nas unidoses do queijo Serra da Estrela
Curado ao longo do estudo do tempo de prateleira31
Tabela 22. Valores de referência para a contagem de enterobactérias, bactérias ácido láticas e
bolores e leveduras presentes em queijo Serra da Estrela DOP
Tabela 23. Colónias características de enterobactérias em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado no tempo 0 do estudo do tempo de prateleira33
Tabela 24. Colónias características de bactérias ácido láticas em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado no tempo 0 do estudo do tempo de prateleira34
Tabela 25. Colónias características de bolores e leveduras em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado no tempo 0 do estudo do tempo de prateleira34
Tabela 26. Colónias características de enterobactérias em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado embaladas a vácuo no tempo 15 do estudo do tempo de
prateleira34
Tabela 27. Colónias características de bactérias ácido láticas em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado embaladas a vácuo no tempo 15 do estudo do tempo de
prateleira35
Tabela 28. Colónias características de bolores e leveduras em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado embaladas a vácuo no tempo 15 do estudo do tempo de
prateleira36













DOS LO BOS

Tabela 29. Colónias características de enterobactérias em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado seladas no tempo 15 do estudo do tempo de prateleira . 37
Tabela 30. Colónias características de bactérias ácido láticas em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado seladas no tempo 15 do estudo do tempo de prateleira . 37
Tabela 31. Colónias características de bolores e leveduras em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado seladas no tempo 15 do estudo do tempo de prateleira . 38
Tabela 32. Colónias características de enterobactérias em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado embaladas a vácuo no tempo 30 do estudo do tempo de
prateleira39
Tabela 33. Colónias características de bactérias ácido láticas em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado embaladas a vácuo no tempo 30 do estudo do tempo de
prateleira39
Tabela 34. Colónias características de bolores e leveduras em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado embaladas a vácuo no tempo 30 do estudo do tempo de
prateleira40
Tabela 35. Colónias características de enterobactérias em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado seladas no tempo 30 do estudo do tempo de prateleira . 40
Tabela 36. Colónias características de bactérias ácido láticas em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado seladas no tempo 30 do estudo do tempo de prateleira . 41
Tabela 37. Colónias características de bolores e leveduras em unidoses de Queijo da Serra da
Estrela DOP Amanteigado e Curado seladas no tempo 30 do estudo do tempo de prateleira . 42















Introdução

O queijo é um dos alimentos fermentados mais antigos. Este produto lácteo é versátil e denso em nutrientes e suscetível a deterioração física, química e bioquímica. Sendo um produto lácteo denso em nutrientes, conclui-se que é uma boa fonte de proteínas, minerais (em particular, cálcio e fósforo), que são constituintes essenciais na maioria dos alimentos consumidos (Jalizadeh *et al.*, 2015).

Após a descoberta do primeiro queijo, foram realizadas muitas experiências visando a criação de novos queijos, levando a que nos dias de hoje existam mais de 500 variedades (Inácio, 2013). Os atributos de cada queijo dependem do leite usado, da forma de coagulação e das condições da maturação. Em alguns casos são introduzidas no leite culturas de bactérias com o papel de iniciadoras da fermentação, para facilitar o processo e garantirem que os queijos produzidos são homogéneos em termos de qualidade. A pasteurização do leite foi também um processo muito importante, uma vez que leva à destruição da maioria dos organismos patogénicos, aumentando o tempo de vida do queijo e, mais importante, a segurança alimentar deste alimento (Pereira, 2005; Inácio, 2013).

As técnicas artesanais usadas pelos primeiros queijeiros, adquiridas através da herança familiar, variavam muito em termos geográficos, e os queijos produzidos eram definidos através do leite das raças dessa determinada região e pelos métodos de fabrico aplicados, conferindo propriedades únicas ao produto final. Por este motivo, muitos dos queijos têm o nome da região onde são produzidos como por exemplo o queijo Serra da Estrela fabricado em Portugal (Pereira, 2005). Este queijo português é um produto DOP (Denominação de Origem Protegida) e é fabricado de uma forma artesanal, com base na forte tradição cultural, o que faz com que as suas características tenham variações significativas, quer ao longo do ano quer entre produtores. O queijo é produzido a partir de leite cru de ovelha que por si só lhe confere qualidades organoléticas distintas, tornando-o no queijo mais apreciado em Portugal (Pereira, 2005). O leite de ovelha utilizado no seu fabrico tem que ser das raças 'Bordaleira Serra da Estrela' ou 'Churra Mondegueira'. É um queijo curado, de pasta semi-mole amanteigada, obtido por dessoramento lento da coalhada depois da coagulação do leite de ovelha cru pelo coagulo vegetal (Cynara cardunculos L.), onde o fabrico é artesanal na área geográfica de produção "Serra da Estrela". A textura, o sabor e o aroma do queijo estão associados à sua composição química e pH (Tenreiro, 2014).

Uma das problemáticas deste produto é a falta de inovação no modo de apresentação, nomeadamente em termos de embalagem e forma de apresentação em unidose - estratégia















comum em queijos DOPs internacionais para aumentar a quota de mercado - que não tem sido devidamente explorada para o Queijo Serra da Estrela.

O queijo Serra da Estrela é um *ex-libris* da gastronomia Portuguesa, em que é necessário investir esforços tecnológicos para proteger e promover o seu caráter tradicional e exclusivo, bem como adaptá-lo ao mercado atual (aumento do tempo de prateleira, novas formas de apresentação, etc.) e assim garantir a sua sustentabilidade.

O queijo Serra da Estrela DOP apresenta uma pasta mole muito caraterística e um perfil sensorial muito próprio, que tornam o processo e manutenção da unidose um desafio.

Ao nível do sistema de unidose já se consegue garantir que as fatias em embalagens de unidose mantêm as suas propriedades sensoriais até períodos de 15 dias em condições de refrigeração. Contudo, para tornar a solução de unidose robusta é necessário garantir um tempo de prateleira superior.

A estabilidade de um produto e, consequentemente o seu tempo de prateleira dependem de muitos fatores, nomeadamente da qualidade dos ingredientes, composição, estrutura do produto, condições de processamento utilizadas durante a sua produção, características de embalagem e, por fim, do armazenamento, manuseamento e condições de distribuição (Kilcast e Subramaniam, 2011).

O tempo de vida útil de um produto ou prazo de validade é definido como o período em que um produto alimentar permanece seguro, mantém as suas caracterísicas sensoriais, químicas desejadas, físicas, microbiológicas e funcionais inalteradas e, de acordo com o que consta no respetivo rótulo, quando armazenado nas condições recomendadas.

As alterações que limitam o prazo de validade de produtos lácteos podem ser de natureza físico-química, química ou bioquímica. São exemplos de alterações físico-químicas o creme de gordura, gelificação de soluções proteicas, cristalização de minerais. Relativamente às alterações químicas que podem surgir são o escurecimento não enzimático e oxidação da gordura. Por fim, as transformações bioquímicas que podem ocorrer num produto lácteo são o crescimento de microorganismos, degradação enzimática, amadurecimento de queijos e fermentação (Kilcast e Subramaniam, 2011).

Atualmente existem vários estudos sobre métodos que permitem o prolongamento do tempo de vida útil do queijo, podendo-se enumerar os seguintes:















Adição de conservantes

Os conservantes possibilitam que as alterações causadas pelo crecimento de microrganismos sejam retardas e fazem com que as propriedades físicas, químicas e nutricionais permaneçam inalteradas por um período de tempo mais alargado. O ácido ascórbico, o benzoato de sódio, o peróxido de hidrogénio, a nisina, a natamicina e o quitosano são os conservantes mais utilizados para prolongar o tempo de vida útil do queijo. A natamicina é um fungicida e pertence aos antibióticos de polietileno, produzida por fermentação aeróbia de *Streptomyces natalensis* e espécies relacionadas. É comumente empregue na indústria dos alimentos, especialmente em produtos lácteos (queijo) para prevenção da contaminação de bolores e leveduras. A natamicina é usada em concentrações entre 1 e 20 ppm. Em geral, leveduras são menos resistente (concentração inibitória mínima abaixo de 5 ppm) do que os bolores (inibição mínima concentração acima de 10 ppm) (Kallinteri *et al.*, 2013).

Embalamento em atmosfera modificada

A manutenção da qualidade do queijo durante o armazenamento requer proteção contra a desidratação e redução de microorganismos indesejáveis, especialmente os patogénicos. A proteção contra a desidratação pode ser alcançada através da utilização de filmes de embalagem com baixa transmissão de vapor de água, (1) semi-barreira (polipropileno, polietileno de baixa densidade) ou (2) filmes de barreira (alumínio, cloreto de polivinileno, cloreto de polivinileno orientado, polietileno de alta densidade) (Day, 1992). O uso de embalagem à atmosfra modificada pode reduzir os níveis de contaminação, contudo as características sensoriais e a sua evolução ao longo do tempo também são importantes. E a este nível alguns autores já indicaram efeitos adversos do CO₂ nas características sensoriais (Jalizadeh *et al.*, 2015).

O potencial da embalagem à atmosfera modificada para prolongar o tempo de vida útil do queijo foi claramente demostrado. Todavia, o embalamento do queijo depende do tipo de queijo, das condições em que foi produzido e do armazenamento. Vários estudos feitos com esta técnica em queijos, em ocasiões distintas, permitiram obter conclusões diferenciadas (Gannariello *et al.*, 2009).















Alta pressão (HPP)

O processamento a alta pressão na gama dos 200 a 700 Mpa é um processamento não térmico capaz de prolongar o tempo de prateleira de vários produtos alimentares. Nos últimos 20 anos, a aplicação desta tecnologia tem sido amplamente estudada e permitiu a redução de contaminação microbiana em diferentes matrizes alimentares (Farkas e Hoover, 2000; Bermudez-Aguirre e Barbosa-Canovas, 2011; Martinez-Rodriguez *et al.*, 2012).

A utilização desta metodologia pode causar a inativação de parasitas, células vegetais, microrganismos, alguns esporos de fungos, muitos vírus de origem alimentar e inativação de enzimas. Todavia, as macromoléculas podem modificar a sua configuração; já as moléculas pequenas normalmente não são afetadas.

De acordo com os resultados que se têm vindo a obter nos últimos anos, a aplicação desta tecnologia na indústria alimentar pode ser útil na produção de um queijo microbiologicamente seguro, com prazo de validade prolongado e com qualidade sensorial.

Revestimentos ativos

A embalagem ativa é um dos sistemas inovadores de embalamento de alimentos introduzido no mercado. As principais técnicas deste tipo de embalagem incluem substâncias que absorvem a humidade, O₂, CO₂, C₂H₄, aromas e odores ou libertação de agentes antimicrobianos, antioxidantes e sabores (Jalizadeh *et al.*, 2015).

O principal objetivo do desenvolvimento da tecnologia de embalagem ativa é a projeção de materiais de embalagem funcionais que contenham substâncias químicas ou fisicamente ativas que são libertadas de forma específica e controlada (Vermeiren *et al.*, 1999).

O sistema de revestimento ativo mais importante inclui materiais antimicrobianos. Independentemente do modo como esta técnica é incorporada no alimento, os sistemas de embalagem antimicrobiana podem ser agrupados em (1) o agente antimicrobiano migra da embalagem para o alimento e (2) o agente antimicrobiano permanece na embalagem.

Atualmente existem vários mecanismos de incorporação do revestimento ativo na indústria alimentar, podendo-se enumerar os seguintes:

I. Adição de saquetas - Neste modo de incorporação têm sido utilizados compostos voláteis a partir de óleos essenciais e não existe contacto direto entre a superfície do alimento e a embalagem, pelo que os antimicrobianos são libertados no espaço da embalagem (Skandamis e Nychas, 2002; Nadarajah et al., 2005).















- II. Dispersão de antimicrobianos no polímero de embalagem Os antimicrobianos são agregados por extrusão, fundição, a quente ou prensagem (Han e Floros, 1997).
- III. Revestimento por imersão em que os molhos servem de transportadores de compostos antimicrobianos e estão em contacto direto com a superfície do alimento a vantagem deste mecanismo é que os compostos não são expostos a temperaturas elevadas e podem ser adicionados em qualquer fase da cadeia de fornecimento do alimento (Rodrigues e Han, 2000; Rodrigues et al., 2002; Cho et al., 2009).
- IV. Macromoléculas antimicrobianas com propriedades de formação de filme para projetar uma embalagem antimicrobiana é crucial selecionar o agente antimicrobiano correto para a embalagem e alimento certos e encontrar um equilíbrio entre a libertação do antimicrobiano e o crescimento microbiano. As interações entre o antimicrobiano-embalagem e alimento-embalagem, bem como as condições ambientais são essenciais para garantir a eficácia de um sistema deste tipo. Os mecanismos como a mecânica, física, química e microbiológica determinam a eficácia de uma embalagem antimicrobiana para um alimento específico (Cutter, 2006).

Os materiais de embalagem podem ser formados por materiais biodegradáveis como amido, celulose, proteínas ou outros materiais sintéticos derivados de polímeros do petróleo (exemplo, polietileno e poliestireno).

• Revestimentos comestíveis

Os filmes e revestimentos comestíveis são produzidos a partir de biopolímeros comestíveis e aditivos de qualidade alimentar. Os biopolímeros formadores de filmes podem ser proteínas, polissacarídeos, lípidos ou misturas destes.

Os filmes e revestimentos comestíveis protegem da deterioração físicca, química e biológica. A aplicação destes sistemas pode melhorar de imediato a resistência fisica de produtos alimentares, reduzir o agrupamento de partículas e melhorar as propriedades visuais e tácteis na superfície do produto. Adicionalmente, também podem proteger os alimentos da migração de humidade, crescimento microbiano na superfície e de alterações química e oxidação de nutrientes induzidas pela luz (Jalizadeh *et al.*, 2015).

Há vários anos que os revestimentos comestíveis são utilizados para prolongar o tempo do queijo. Neste sentido, as substâncias formadoras de filme que mais têm sido utilizadas para esse efeito são: proteínas (em particular, caseína, proteína de soro de leite, glúten de trigo), polissacarídeos (amido, amido modificado, celulose modificada, alginato, carragenina,















quitosano, goma de gel, quitooligossacarídeos (COS)), lípidos (óleo de girassol, Tween 20, cera de abelha). Além destes, também outras substâncias têm sido utilizadas como plastificantes e aditivos funcionais e que contribuem para o prolongamento do tempo de vida útil do queijo. Dentro dos plastificantes destacam-se a glicerina, propileno glicol, sorbitol, sacarose, polietileno glicol, xarope de milho e água. No que respeita aos aditivos funcionais evidenciam-se os seguintes: antioxidantes, antimicrobianos, nutrientes, nutracêuticos, produtos farmacêuticos e sabores (Jalizadeh *et al.*, 2015).

Os revestimentos podem ser aplicados através de métodos como imersão, gotejamento, espuma e revestimento de leito fluidizado.

Métodos combinados

Para o prologamento do tempo de prateleira de um determinado alimento também se podem utilizar métodos combinados, nomeadamente um revestimento de quitosano com uma embalagem com atmosfera modificada (Del Nobile *et al.*, 2009).

Posto isto, o queijo é um produto suscetível a deterioração através de fatores químicos, físico e bioquímicos. Dentro destes fatores os que mais afetam a estabilidade dos queijos são o cescimento de microorganismos mesofílicos e piscotróficos, perda de massa, oxidação lipídica e decomposição enzimática. Neste seguimento, foram realizados estudos de prateleira considerando várias amostras de unidoses de queijo Serra da Estrela em várias condições de acondicionamento e armazenamento.















Execução da tarefa

A tarefa 2.1 da Iniciativa ProDop teve como principal objetivo otimizar o sistema de unidose do Queijo Serra da Estrela DOP (queijo SE DOP), em termos de conservação. Ou seja, foi necessário estender o tempo de prateleira por períodos superiores a 15 dias em condições normais de armazenamento e logística, para garantir a entrada deste produto de execelência em novos mercados. Importa realçar que relativamente ao processo de unidose, a BLC3 já desenvolveu um processo em que se obtêm as fatias de queijo Serra da Estrela e já se conseguia garantir que estas mantivessem as suas propriedades sensoriais até períodos de 15 dias em condições de refrigeração.

A BLC3 teve um papel principal e fundamental na otimização do sistema de unidose do queijo Serra da Estrela DOP através da realização de vários estudos de prateleira.

Antes de realizar a aquisição de queijos da Serra da Estrela realizou-se uma revisão bibliográfica sobre estudos de prateleira para produtos idênticos ao queijo Serra da Estrela para realizar, posteriormente um delineamento e planeamento de como se iriam efetuar os estudos de vida útil em condições normais de armazenamento.

Os estudos de vida de prateleira foram conduzidos por forma a expor uma determinada quantidade de produto sob condições que simulassem as condições de armazenamento semelhantes às que o produto poderá estar sujeito durante o tempo indicado para utilização. Após uma periodicidade definida, foram realizados testes ao produto para avaliar as alterações ocorridas com potencial impacto na sua qualidade. O delineamento destes estudos, incluindo as condições do estudo e duração dos testes a realizar, depende primariamente do produto em causa e requisitos regulamentares aplicáveis.

No sentido de se tornar a solução de unidose robusta foi necessário garantir um tempo de prateleira superior e, para tal, equacionaram-se várias possibilidades de embalamento. O principal objetivo era efetuar testes de revestimento e testar a hipótese de atmosfera modificada. Posto isto, na **Tabela 1** apresentam-se as várias formas de acondicionamento das unidoses do queijo Serra da Estrela DOP que foram sujeitas aos estudos de prateleira.













DOS LO BOS

Tabela 1. Amostras sujeitas ao estudo do tempo de prateleira

Amostra	Revestimento	Tipo de embalamento	Temperatura de armazenamento (°C)	Tempo (d)
Queijo amanteigado SE	Sem	Atmosfera normal (selagem)		
Queijo amanteigado SE	revestimento	revestimento Atmosfera modificada (vácuo) Atmosfera normal Com (selagem)		
Queijo amanteigado SE	Com			
Queijo amanteigado SE	revestimento	Atmosfera modificada (vácuo)	Condições normais de	0 15 30
Queijo Ovelha Curado SE	Sem	Atmosfera normal (selagem)	armazenamento:	
Queijo Ovelha Curado SE	revestimento	Atmosfera modificada (vácuo)	4 0	
Queijo Ovelha Curado SE	Com	Atmosfera normal (selagem)		
Queijo Ovelha Curado SE	revestimento	Atmosfera modificada (vácuo)		

É de salientar que antes de realizar o tempo de prateleira propriamente dito realizaramse uns testes preliminares durante 60 dias à temperatura de refrigeração de 4 °C com controlo físico-químico a cada 15 dias. Estes ensaios iniciais permitiram redefinir a duração do estudo do tempo de prateleira passando de 60 dias para 30 dias, pelo que se verificou que seria a partir dos 30 dias que os parâmetros começavam a ter maiores alterações, principalmente ao nível de perda de massa.

Já no estudo de tempo de prateleira, as amostras de queijos em unidoses com e sem revestimento aplicado foram monitorizadas aos 0, 15 e 30 dias de armazenamento, à temperatura de refrigeração de 4 °C. A monitorização das caraterísticas das amostras consistiu no estudo do teor em sólidos solúveis e totais, humidade, cinzas, pH e acidez titulável. Para a verificação destas propriedades são recomendados os métodos descritos em *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*, pois conferem um elevado grau de fiabilidade aos resultados obtidos. Adicionalmente, também foi efetuado o registo da perda de massa das amostras, a medição da atividade de água e análise da textura.

Na **Tabela 2** apresentam-se as análises físico-químicas, bem como o método a executar no decorrer dos estudos de vida útil do queijo Serra da Estrela.













DOS LO BOS

Tabela 2. Análises físico-químicas e respetivos métodos

Análises físico-químicas	Método			
Atividade de água (a _w)	Medidor de atividade de água			
рН	Para a medição do pH foi necessário proceder à preparação prévia de amostras de queijo. Começou-se por triturar 10 gramas de queijo e misturou-se com 105 ml de água à temperatura de 40 °C. Após a homogeneização da solução, deixou-se assentar e filtrou-se. As amostras foram arrefecidas até à temperatura ambiente e medido o pH através de um equipamento medidor do pH			
Acidez titulável	Para a determinação da acidez titulável utilizou-se 25 ml das mesmas soluções da medição do pH e um titulador automático, Titroline 6000 da S.I. Analytics (Alemanha), onde se definiu o pH do ponto de viragem de 8,3			
Teor de humidade e sólidos totais	Determinado por gravimetria de acordo com a norma AOAC 926.08			
Perda de massa	Registo para controlar a perda de massa, através da balança, ao longo do estudo de estabilidade			
Cor	Determinado de acordo com aplicação Color Grab			
Atividade de água	Realização de ensaios no medidor de atividade de água			
Textura	Na análise de textura será efetuado um teste de análise do perfil de textura (TPA). A partir da curva obtida (força vs. tempo) será possível determinar a dureza, adesividade, coesividade, elasticidade, mastigabilidade e gomosidade			

Ao nível de análises microbiológicas, os conjuntos de microrganismos mais representativos da microbiota do Queijo Serra da Estrela são: bactérias ácido láticas (BAL); bactérias da família Enterobacteriaceae e leveduras e bolores. Seguidamente, é descrito o modo de preparação das amostras, bem como os procedimentos das análises microbiológicas realizadas durante os estudos de vida útil do queijo Serra da Estrela (**Tabela 3**).

Tabela 3. Análises microbiológicas e respetivos métodos

Análises microbiológicas	Método
Preparação das amostras	ISO 7218:2007
Preparação das diluições	NP 3005:1985
Contagem de Enterobacteriaceae	ISO 21528-2:2004
Bactérias ácido-láticas	ISO 15214:1998
Contagem de bolores e leveduras	NP 3277-1:1987

Estudo de tempo de prateleira preliminar

Foram realizados alguns testes preliminares para o estudo do tempo de prateleira de unidoses do Queijo Serra da Estrela DOP. Para isto, foram utilizados quatro queijos Serra da Estrela DOP provenientes de quatro produtores diferentes. Estes queijos foram fatiados e as fatias foram embaladas a vácuo e em unidoses (**Figura 1**). Como apenas se tinha um queijo de















cada produtor, não foi possível testar cada tempo de prateleira em triplicado. As fatias foram armazenadas a 4 °C e monitorizadas aos 0, 15, 30, 45 e 60 dias de armazenamento. A monitorização das caraterísticas das amostras consistiu no estudo da perda de massa, do teor em sólidos solúveis e totais, humidade, cinzas, pH, acidez titulável e salinidade. As restantes análises propostas inicialmente não foram possíveis de realizar por falta de amostra, pois estes testes foram efetuados num contexto de testes preliminares. Foi considerado como tempo 0 dias o dia do início do ensaio, a partir do qual as amostras foram monitorizadas a cada 15 dias.



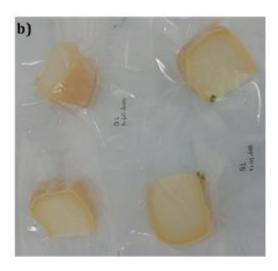


Figura 1. Registo fotográfico de amostras de queijo Serra da Estrela sujeitas ao estudo de tempo de prateleira: a) Embalamento em unidose à atmosfera normal e b) Embalamento a vácuo.

• Queijo Serra da Estrela DOP (produtor: Paulo Rogério)

Os resultados obtidos para os queijos deste produtor são apresentados na **Tabela 4** e na **Tabela 5**. Pela análise da **Tabela 4** é possível observar que no estudo da humidade houve um pequeno aumento da humidade após 15 dias, sendo que a partir destes verificou-se uma pequena descida gradual. Já no que diz respeito ao estudo das cinzas, verificou-se que até à monitorização da amostra de tempo 45 dias houve um aumento gradual na percentagem de cinzas obtidas, sendo que a última monitorização, 60 dias, a percentagem de cinzas diminuiu drasticamente comparativamente com os valores obtidos anteriormente. Quanto ao pH não se verificou uma variação acentuada e no estudo da acidez titulável, verificou-se variação, de tempo para tempo, inconstante. No que diz respeito ao estudo de sólidos solúveis verificou-se um aumento gradual com o tempo de prateleira. Os resultados obtidos no estudo da salinidade variaram a cada nova monitorização, não seguindo um padrão de aumento ou diminuição.















Quanto ao estudo da perda de massa, devido à grande aderência das amostras de queijo às embalagens, não foi possível analisar a perda de massa em todas as monitorizações.

Devido à quantidade reduzida de amostra, como referido inicialmente, as amostras de fatias deste queijo embaladas em unidoses não tinham massa suficiente para efetuar as análises em triplicado. Assim os resultados apresentados na **Tabela 5** são apenas um duplicado para o estudo da humidade e cinzas. Já para o pH acidez titulável, sólidos solúveis e salinidade foi possível analisar em triplicado. Pela análise da **Tabela 5** foi possível observar que apenas no estudo da perda de massa se obteve uma variação linear, enquanto nos restantes estudos, os resultados obtidos variaram ao longo do tempo, aumentando ou diminuindo a cada monitorização efetuada. Isto pode dever-se ao facto de as amostras de queijo embaladas em unidoses estarem em contacto com o ar presente dentro da embalagem.

Tabela 4. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas a vácuo e armazenadas a 4 °C

Tempo (dias)	Perda de massa (g) ± σ	Humidade (%) ± σ	Cinzas (%) ± σ	pH±σ	Acidez titulável (% ácido lático) ± σ	Sólidos solúveis (BRIX°) ± σ	Salinidade (g/L) ± σ
0	-	51,94 ± 0,33	6,62 ± 0,07	5,6 ± 0,5	10,54 ± 1,00	1,30 ± 0,08	1,80 ± 0,00
15	-	52,17 ± 0,37	6,80 ± 0,01	5,4 ± 0,5	16,12 ± 2,65	1,70 ± 0,08	1,90 ± 0,00
30	74,17 ± 0,00	51,00 ± 0,73	6,89 ± 0,13	6,0 ± 0,0	15,40 ± 1,73	1,73 ± 0,05	1,77 ± 0,05
45	36,93 ± 0,00	50,88 ± 1,52	6,95 ± 0,25	6,1 ± 0,0	15,91 ± 2,20	1,80 ± 0,00	2,00 ± 0,00
60	-	47,97 ± 1,21	6,33 ± 0,17	6,0 ± 0,0	17,89 ± 2,56	1,90 ± 0,08	2,03 ± 0,05

Tabela 5. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas em unidoses e armazenadas a 4 °C

Tempo (dias)	Perda de massa (g) ± σ	Humidade (%) ± σ	Cinzas (%) ± σ	pH±σ	Acidez titulável (% ácido lático) ± σ	Sólidos solúveis (BRIX°) ± σ	Salinidade (g/L) ± σ
0	-	51,94 ± 0,33	6,62 ± 0,07	5,6 ± 0,4	10,54 ± 1,00	1,30 ± 0,08	1,80 ± 0,00
15	2,30 ± 0,00	51,13 ± 0,00	6,93 ± 0,00	5,3 ± 0,3	15,93 ± 1,47	1,70 ± 0,00	1,77 ± 0,05
30	3,17 ± 0,00	52,59 ± 0,00	7,05 ± 0,00	6,1 ± 0,0	23,73 ± 6,52	1,70 ± 0,00	1,90 ± 0,00
45	6,36 ± 0,00	51,75 ± 0,00	6,96 ± 0,00	6,2 ± 0,0	13,91 ± 0,78	1,90 ± 0,00	1,80 ± 0,00
60	7,95 ± 0,00	52,10 ± 0,00	6,95 ± 0,00	6,3 ± 0,0	13,71 ± 0,29	1,73 ± 0,05	1,77 ± 0,05













DOS LO BOS

• Queijo de Serra da Estrela DOP (produtor: Dos Lobos)

Os resultados obtidos para o queijo do produtor Dos Lobos são apresentados na **Tabela** 6 e na **Tabela 7**. Quanto ao estudo da perda de massa, mais uma vez, devido à grande aderência das amostras de queijo às embalagens, houve dificuldade nas monitorizações. Quanto aos estudos da humidade e cinzas, verificam-se pequenas variações, mas, no geral, uma diminuição das percentagens de humidade e cinzas com o tempo. No que diz respeito ao pH verificou-se uma diminuição na monitorização aos 15 dias, seguida de aumento nas restantes. No estudo da acidez titulável, verificou-se variação, de tempo para tempo, inconstante. Quanto à monitorização dos sólidos solúveis, os resultados obtidos aumentaram até ao tempo de 45 dias e na última monitorização, aos 60 dias, diminuiu. Já os resultados obtidos para a salinidade variaram de forma inconstante (**Tabela 6**).

Quando as amostras de queijo embaladas em unidoses dos tempos 15, 30 e 45 dias foram retiradas da refrigeração verificou-se que estas continham bolores na superfície (**Tabela 7**). Assim, os resultados da perda de massa destas amostras foram descartados. Antes de proceder aos restantes estudos as amostras foram raspadas superficialmente para descartar o bolor. Pela análise da **Tabela 7**, é possível observar que nos estudos da humidade, cinzas, pH, acidez titulável e salinidade que os resultados obtidos variaram ao longo do tempo, aumentando ou diminuindo a cada monitorização efetuada. Isto pode dever-se ao facto de as amostras de queijo embaladas em unidoses estarem em contacto com o ar presente dentro da embalagem. Já no estudo dos sólidos solúveis verificou-se um aumento gradual ao longo do tempo.

Tabela 6. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas a vácuo e armazenadas a 4 °C

Tempo (dias)	Perda de massa (g) ± σ	Humidade (%) ± σ	Cinzas (%) ± σ	pH±σ	Acidez titulável (% ácido lático) ± σ	Sólidos solúveis (BRIX°) ± σ	Salinidade (g/L) ± σ
0	-	50,01 ± 1,09	8,21 ± 0,07	5,3 ± 0,3	16,21 ± 1,11	1,53 ± 0,05	2,70 ± 0,00
15	3,42 ± 0,00	50,13 ± 0,56	-	4,1 ± 0,2	19,43 ± 1,19	1,63 ± 0,05	2,50 ± 0,00
30	6,10 ± 0,00	46,64 ± 3,33	8,38 ± 0,28	5,5 ± 0,0	17,70 ± 0,59	1,63 ± 0,05	2,73 ± 0,05
45	16,35 ± 0,00	46,97 ± 2,22	7,86 ± 0,40	5,6 ± 0,0	18,23 ± 1,67	2,03 ± 0,09	2,57 ± 0,05
60	12,28 ± 0,00	44,51 ± 0,30	7,39 ± 0,11	5,6 ± 0,0	17,89 ± 0,59	1,87 ± 0,05	2,77 ± 0,05















Tabela 7. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas em unidoses e armazenadas a 4 °C

Tempo (dias)	Perda de massa (g) ± σ	Humidade (%) ± σ	Cinzas (%) ± σ	pH±σ	Acidez titulável (% ácido lático) ± σ	Sólidos solúveis (BRIX°) ± σ	Salinidade (g/L) ± σ
0	-	50,01 ± 1,09	8,21 ± 0,07	5,3 ± 0,3	16,21 ± 1,11	1,53 ± 0,05	2,70 ± 0,00
15	-	50,40 ± 0,00	8,35 ± 0,00	3,6 ± 0,9	20,22 ± 1,89	1,70 ± 0,08	2,47 ± 0,05
30	-	45,81 ± 0,00	7,75 ± 0,00	5,7 ± 0,0	18,36 ± 0,38	1,73 ± 0,09	2,43 ± 0,00
45	-	46,39 ± 0,00	7,50 ± 0,00	5,6 ± 0,0	15,00 ± 0,52	1,73 ± 0,09	2,47 ± 0,05
60	4,50 ± 0,00	49,00 ± 0,00	7,91 ± 0,00	5,7 ± 0,0	17,40 ± 1,39	1,87 ± 0,05	2,43 ± 0,05

Queijo Serra da Estrela DOP (produtor: Vale da Estrela)

Quanto ao estudo de perda de massa este estudo foi mais uma vez condicionado devido à aderência das fatias de queijo às embalagens, no entanto, foram obtidos os resultados apresentados na **Tabela 8**. No que diz respeito aos resultados obtidos no estudo de humidade, é possível observar que estes variaram a cada monitorização, aumentando e diminuindo de forma inconstante. Quanto aos resultados do estudo das cinzas, verificou-se um aumento até aos 30 dias, seguido de uma diminuição e o mesmo foi obtido no estudo dos sólidos solúveis. No estudo do pH, os resultados obtidos mantiveram-se constante a partir dos 30 dias. Já os valores obtidos para a acidez titulável variaram de forma inconstante com o tempo. No caso da salinidade, os resultados obtidos começaram por aumentar, sendo que estabilizaram a partir dos 45 dias (**Tabela 8**).

Os estudos efetuados nas unidoses apresentados na **Tabela 9** quando a amostra de fatia embalada em unidose do tempo 30 dias foi retirada da refrigeração, verificou-se que esta continha bolores na superfície. Assim o valor da perda de massa desta amostra foi descartado e procedeu-se à limpeza da amostra antes da realização dos restantes estudos. Pela análise da **Tabela 9**, é possível verificar a falta de valores no tempo de 15 dias para a humidade e cinzas; isto deveu-se à quebra do cadinho de análise ao retirar da estufa, e assim a amostras foi descartada. No entanto, os valores obtidos para as restantes análises variaram de forma inconstante. Quanto aos valores de pH monitorizados, inicialmente verificou-se uma descida nos primeiros 15 dias, sendo seguida de uma subida e estabilização a um de pH de 6,2. Nos valores da acidez titulável verificou-se uma subida nos primeiros 15 dias de monitorização, seguida de uma descida. No que diz respeito aos sólidos solúveis verificou-se nos primeiros 30 dias uma descida gradual seguida de uma subida gradual, sendo que aos 60 dias foi obtido um valor de sólidos solúveis superior ao inicial. Já nos valores obtidos no estudo da salinidade















verificou-se uma descida nos primeiros 30 dias, seguida de uma subida repentina aos 45 dias e nova descida no final do estudo, aos 60 dias.

Tabela 8. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas a vácuo e armazenadas a 4 °C

Tempo (dias)	Perda de massa (g) ± σ	Humidade (%) ± σ	Cinzas (%) ± σ	pH ± σ	Acidez titulável (% ácido lático) ± σ	Sólidos solúveis (BRIX°) ± σ	Salinidade (g/L) ± σ
0	-	47,17 ± 0,20	9,20 ± 0,03	5,6 ± 0,2	13,42 ± 0,99	1,87 ± 0,05	3,00 ± 0,00
15	4,88 ± 0,00	48,79 ± 2,09	9,67 ± 0,55	5,5 ± 0,3	17,20 ± 1,25	1,93 ± 0,12	3,03 ± 0,09
30	3,85 ± 0,00	47,22 ± 2,30	10,21 ± 0,23	6,1 ± 0,0	13,73 ± 1,63	1,97 ± 0,17	3,13 ± 0,05
45	8,63 ± 0,00	47,88 ± 0,73	9,72 ± 0,22	6,1 ± 0,0	14,91 ± 0,81	1,93 ± 0,14	3,10 ± 0,00
60	15,31 ± 0,00	44,23 ± 0,60	8,92 ± 0,16	6,1 ± 0,0	16,14 ± 2,73	1,83 ± 0,05	3,10 ± 0,08

Tabela 9. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas em unidoses e armazenadas a 4 °C

Tempo (dias)	Perda de massa (g) ± σ	Humidade (%) ± σ	Cinzas (%) ± σ	pH ± σ	Acidez titulável (% ácido lático) ± σ	Sólidos solúveis (BRIX°) ± σ	Salinidade (g/L) ± σ
0	-	47,17 ± 0,20	9,20 ± 0,03	5,6 ± 0,2	13,41 ± 0,99	1,87 ± 0,05	3,00 ± 0,00
15	1,37 ± 0,00	-	-	4,7 ± 0,5	17,78 ± 0,32	1,77 ± 0,09	2,10 ± 0,00
30	-	46,41 ± 0,00	9,48 ± 0,00	6,2 ± 0,0	13,01 ± 1,22	1,37 ± 0,05	2,00 ± 0,00
45	4,08 ± 0,00	49,36 ± 0,00	10,11 ± 0,00	6,1 ± 0,0	13,61 ± 3,08	1,90 ± 0,08	2,90 ± 0,00
60	5,25 ± 0,00	43,00 ± 0,00	8,71 ± 0,00	6,2 ± 0,0	12,18 ± 1,33	2,03 ± 0,25	2,77 ± 0,05

• Queijo da Serra da Estrela DOP (produtor: Maratona Delícias)

Os resultados obtidos estão apresentados na **Tabela 10** e na **Tabela 11**. Este queijo apresentou diferenças, em relação aos restantes três primeiros queijos em estudo, no que diz respeito à aderência às embalagens em vácuo. Assim sendo, foi possível retirar facilmente as fatias da embalagem e efetuar o estudo da perda de massa. Pela observação da **Tabela 10** foi possível identificar uma perda de massa gradual com o tempo de monitorização. Quanto ao estudo da humidade, foi possível observar que houve uma diminuição da humidade ao longo tempo, sendo uma diminuição moderada (**Tabela 10**). Já no estuda da percentagem de cinzas verificou-se uma subida inicial seguida de uma descida, que foi moderada, assim como na humidade. Quanto ao pH é possível observar uma descida nos primeiros 15 dias de monitorização das amostras, seguido de uma subida aos 30 dias e estabilização. Também na acidez titulável foi obtida uma estabilização após os 30 dias de monitorização. Na análise aos















dados dos sólidos solúveis e a salinidade na **Tabela 10** verificam-se pequenas variações nos valores entre monitorizações.

Assim como aconteceu nas embalagens de vácuo, também nas unidoses as fatias não aderiram às embalagens e assim foi possível verificar, como demonstra a **Tabela 11**, alguma perda de massa ao longo do tempo de monitorização. Pela análise da mesma tabela foi possível verificar que os valores obtidos para a análise da percentagem da humidade variaram pouco, verificando-se uma subida nos primeiros 30 dias. Na análise das cinzas foi possível identificar uma subida na percentagem de cinzas até aos 30 dias de monitorização seguida de uma descida até ao final dos testes. Quanto aos valores de pH monitorizados, inicialmente verificou-se uma descida nos primeiros 15 dias, sendo seguida de uma subida e estabilização a um de pH de 6,2. Nos valores da acidez titulável verificou-se uma subida nos primeiros 15 dias de monitorização, seguida de uma descida. No que diz respeito aos sólidos solúveis verificou-se nos primeiros 30 dias uma descida gradual seguida de uma subida e estabilização. Já nos valores obtidos no estudo da salinidade verificou-se uma variação inconstante (**Tabela 11**).

Tabela 10. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas a vácuo e armazenadas a 4 °C

Tempo (dias)	Perda de massa (g) ± σ	Humidade (%) ± σ	Cinzas (%) ± σ	pH±σ	Acidez titulável (% ácido lático) ± σ	Sólidos solúveis (BRIX°) ± σ	Salinidade (g/L) ± σ
0	-	48,79 ± 0,28	5,73 ± 2,01	6,0 ± 0,2	12,26 ± 0,09	1,83 ± 0,05	2,30 ± 0,00
15	5,44 ± 0,00	47,53 ± 0,92	7,05 ± 0,14	4,8 ± 0,2	17,74 ± 1,80	1,67 ± 0,05	2,20 ± 0,00
30	6,12 ± 0,00	47,00 ± 0,62	6,98 ± 0,10	6,2 ± 0,0	12,96 ± 1,00	1,70 ± 0,00	2,33 ± 0,05
45	12,57 ± 0,00	46,68 ± 0,32	6,80 ± 0,04	6,2 ± 0,0	13,50 ± 2,00	1,93 ± 0,05	2,33 ± 0,09
60	22,72 ± 0,00	46,85 ± 0,80	6,88 ± 0,15	6,3 ± 0,0	13,49 ± 1,45	1,67 ± 0,09	2,10 ± 0,08

Tabela 11. Resultados obtidos do estudo do tempo de prateleira das amostras embaladas em unidoses e armazenadas a 4 °C

Tempo (dias)	Perda de massa (g) ± σ	Humidade (%) ± σ	Cinzas (%) ± σ	pH ± σ	Acidez titulável (% ácido Lático) ± σ	Sólidos solúveis (BRIX°) ± σ	Salinidade (g/L) ± σ
0	-	48,79 ± 0,28	5,73 ± 2,01	6,0 ± 0,2	12,26 ± 0,09	1,83 ± 0,05	2,30 ± 0,00
15	1,08 ± 0,00	48,82 ± 0,00	7,19 ± 0,00	5,2 ± 0,1	18,18 ± 2,66	1,77 ± 0,05	2,40 ± 0,00
30	2,37 ± 0,00	49,08 ± 0,00	7,41 ± 0,00	6,2 ± 0,0	14,81 ± 2,13	1,53 ± 0,05	2,10 ± 0,00
45	4,71 ± 0,00	46,06 ± 0,00	7,04 ± 0,00	6,2 ± 0,0	14,15 ± 0,59	1,67 ± 0,09	2,43 ± 0,47
60	7,28 ± 0,00	47,29 ± 0,00	7,01 ± 0,00	6,4 ± 0,0	12,04 ± 1,14	1,67 ± 0,05	2,07 ± 0,05

Estes ensaios preliminares demonstraram a necessidade de um revestimento das fatias de queijo Serra da Estrela para que o queijo não esteja em contacto com o ar presente dentro















das embalagens, evitando a contaminação por bolores. Também é importante referir que a aderência das fatias de queijo às embalagens foi um obstáculo neste estudo, sendo mais evidente nas embalagens a vácuo do que nas unidoses.

Estudo do tempo de prateleira

Após as ilações retiradas do ensaio preliminar realizou-se o estudo de tempo de prateleira das unidoses do queijo Serra da Estrela DOP amanteigado e curado, em que numas foi aplicado um revestimento e noutras não, assim como se utilizaram duas condições de acondicionamento, ou seja, embalamento à atmosfera normal (selagem) e modificada (vácuo).

O queijo Serra da Estrela pode apresentar-se como um queijo curado, de pasta semimole, branco ou ligeiramente amarelada, bem ligada, cremosa e untosa com poucos ou nenhuns olhos, sendo assim vulgarmente designado de queijo Serra da Estrela amanteigado; ou como um queijo de ovelha curado de pasta semidura e extra dura ligeiramente quebradiço, untosa, cor alaranjada/ acastanhada, com poucos ou nenhuns olhos, sendo neste caso correntemente denominado de queijo da Serra da Estrela Curado ou Velho (CEQSE-DOP, 2011). De acordo com esta informação, decidiu-se realizar o estudo de tempo de prateleira para queijo da Serra da Estrela Amanteigado e Curado.

No tempo 0, início do estudo de tempo de prateleira, os queijos foram fatiados e as fatias que deviam ser revestidas foram pinceladas com o revestimento enriquecido com extrato de maçã 'Malápio' (Figura 2). Deixou-se secar durante aproximadamente 2 horas e, posteriormente, foram embaladas de acordo com o estipulado (Figura 3). É de salientar que para o estudo de tempo de prateleira foram utilizadas unidoses de queijo em triplicado para cada tempo de análise e para cada condição.



Figura 2. Aplicação do revestimento com extrato antioxidante nas unidoses de queijo Serra da Estrela DOP.

















Figura 3. Condições de embalamento aplicado nas unidoses de queijo Serra da Estrela DOP sujeitas ao estudo do tempo de prateleira, em que A é o embalamento à atmosfera normal (selagem) e B é o embalamento à atmosfera modificada (vácuo).

Na **Tabela 12** e **Tabela 13** encontra-se o registo fotográfico da evolução das unidoses queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado, respetivamente. Neste registo pode-se constatar que visualmente não existiram diferenças entre as unidoses de um período de controlo para o outro, não se verificando, portanto, a olho nu alteração da cor e aparecimento de bolores.

Tabela 12. Evolução das unidoses queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado durante o estudo de tempo de prateleira

	Unidoses de queijo Serr	a da Estrela DOP Amanteig	gado
		nosfera modificada (vácuo)	
Período de Controlo	t _o	t ₁₅	t ₃₀
Sem revestimento		4	
Com revestimento			
	Embalamento à atr	nosfera normal (selagem)	
Período de Controlo	t ₀	t ₁₅	t ₃₀
Sem revestimento			























Tabela 13. Evolução das unidoses queijo Serra da Estrela DOP Curado durante o estudo de tempo de prateleira

	Unidoses de queijo Se	rra da Estrela DOP Curado	
	Embalamento à atmo	osfera modificada (vácuo)	
Período de Controlo	t ₀	t ₁₅	t ₃₀
Sem revestimento			
Com revestimento			
		osfera normal (selagem)	
Período de Controlo	t ₀	t ₁₅	t ₃₀
Sem revestimento			
Com revestimento			TO TO STATE OF THE PARTY OF THE

Na **Tabela 14** e na **Tabela 15** apresentam-se os resultados obtidos para as análises químicas realizadas durante o estudo de tempo de prateleira relativamente ao queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Serra da Estrela DOP Curado, respetivamente.

Pela análise da **Tabela 14**, pode-se constatar que, ao nível da perda de massa, houve uma perda ao longo do tempo, tendo sido mais acentuada para o queijo sem revestimento embalado a vácuo. Contudo, as perdas de massa registadas são quase insignificantes, sendo a maior perda a de 1,71 g (em média). Quanto aos valores de pH monitorizados verificou-se que













DOS LO BOS

as unidoses embaladas a vácuo com revestimento tiveram pouca variação ao longo dos 30 dias, ao contrário das embaladas a vácuo sem revestimento, que no tempo 30 apresentaram um valor bastante superior. As unidades seladas com e sem revestimento apresentaram uma oscilação de valores de pH, sendo que se registou uma descida no tempo 15 e uma subida no tempo 30. No que respeita à percentagem de acidez, este parâmetro diminuiu ao longo do tempo de estudo em todas as condições testadas, sendo que essa diminuição foi pouco significativa. A percentagem de humidade presente nas unidoses diminuiu em todos os tempos de análise, o que é normal pelo que com o decorrer do tempo o queijo vai perdendo água, o que também está concordante com os valores obtidos para a atividade da água, que foi reduzindo com o tempo (resultado expectável uma vez que a água livre no alimento também vai diminuindo com o tempo). É de salientar que a condição que apresentou menor perda de humidade foi as unidoses com revestimento. Por fim, os valores obtidos para as cinzas oscilaram, sendo que aumentou ligeiramente no tempo 15 e depois voltou a diminuir no tempo 30, ainda que pouco. As unidoses com revestimento e embaladas a vácuo foram as que apresentaram menor variação ao nível deste parâmetro.

Tendo por base a Tabela 15, pôde-se concluir que a perda de massa aumentou ao longo do tempo e foi mais acentuada para as unidoses sem revestimento embaladas a vácuo e seladas. Todavia, as perdas de massa registadas foram quase insignificantes, sendo a maior de 3,26 g (em média). Quanto aos valores de pH monitorizados verificou-se que as unidoses embaladas a vácuo com e sem revestimento apresentaram uma descida de valores quer no tempo 15 quer no tempo 30; já as seladas com e sem revestimento obtiveram um valor de pH mais baixo no tempo 15 tendo estabilizado até ao final do estudo. Tal como aconteceu nas unidoses de queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado, no queijo Curado também se verificou que a percentagem de acidez diminuiu ao longo do tempo de estudo em todas as condições testadas, exceto nas unidoses com revestimento seladas, que obtiveram um valor menor no tempo 15, aumentando no tempo 30. Já a percentagem de humidade presente nas unidoses diminuiu em todos os tempos de análise, o que é normal pelo que, com o decorrer do tempo, o queijo vai perdendo água, o que também está concordante com os valores obtidos para a atividade da água, que foi reduzindo com o tempo. É de salientar que a condição que apresentou menor perda de humidade foi o embalamento a vácuo. Por fim, os valores obtidos para as cinzas oscilaram com o decorrer do estudo, sendo que aumentou no tempo 15 e depois voltou a diminuir no tempo 30, exceto para as unidoses sem revestimento embaladas a















vácuo que diminuiu sempre. As unidoses com revestimento e embaladas a vácuo foram as que apresentaram menor variação ao nível deste parâmetro.

Tabela 14. Resultados obtidos para as análises químicas realizadas durante o estudo de tempo de prateleira do queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado

	Condições	Tempo	Perda de massa (g) + σ	рН + σ	Acidez titulável (%) + σ	Humidade (%) + σ	Cinzas (%) + σ	a _w + σ
	Vácuo	0	I	5,53±0,04	10,04±0,01	62,03±0,002	5,80±0,004	0,938±0,001
	Com	15	0,07±0,01	5,53±0,21	9,12±0,01	53,82±0,04	5,87±0,002	0,933±0,002
	revestimento	30	0,42±0,40	5,50±0,19	8,05±0,01	47,04±0,016	5,58±0,07	0,928±0,001
Queijo DOP	Vácuo	0	I	5,53±0,04	11,13±0,06	62,03±0,002	5,80±0,004	0,938±0,001
Amanteigado	Sem	15	0,11±0,01	5,58±0,06	10,04±0,01	48,75±0,004	6,36±0,001	0,934±0,001
7a.iii eigaa e	revestimento	30	1,71±2,37	5,79±0,09	9,01±0,011	31,63±0,135	6,30±0,056	0,925±0,016
	Selagem	0	I	5,53±0,04	10,04±0,01	62,03±0,002	5,80±0,004	0,938±0,001
	Com	15	0,01±0,03	5,28±0,05	10,51±0,002	51,11±0,01	5,73±0,008	0,962±0,004
	revestimento	30	0,03±0,01	5,52±0,8	8,39±0,014	47,01±0,018	6,08±0,003	0,932±0,03
	Selagem	0		5,53±0,04	10,04±0,01	62,03±0,002	5,80±0,004	0,938±0,001
	Sem	15	0,04±0,07	5,44±0,03	10,01±0,03	55,01±0,03	6,26±0,003	0,933±0,004
	revestimento	30	0,08±0,04	5,52±0,13	9,31±0,33	44,22±0,024	6,20±0,001	0,900±0,007

Tabela 15. Resultados obtidos para as análises químicas realizadas durante o estudo de tempo de prateleira do queijo Serra da Estrela DOP Curado

	Condições	Tempo	Perda de massa (g) + σ	pH + σ	Acidez titulável (%) + σ	Humidade (%) + σ	Cinzas (%) + σ	a _w + σ
	Vácuo	0	_	5,76±0,03	15,26±0,01	64,20±0,20	6,87±0,001	0,942±0,003
	Com	15	0,06±0,02	5,34±0,08	14,16±0,01	52,80±0,02	6,78±0,004	0,927±0,001
	revestimento	30	0,08±0,02	5,26±0,04	12,14±0,01	43,80±0,02	6,61±0,281	0,926±0,001
Queijo	Vácuo	0	_	5,76±0,03	15,26±0,01	64,20±0,20	6,87±0,001	0,942±0,003
DOP	Sem	15	0,09±0,01	5,39±0,03	13,69±0,01	54,55±0,002	7,42±0,025	0,925±0,003
Curado	revestimento	30	3,36±4,61	5,32±0,07	12,16±0,01	46,79±0,01	7,83±0,001	0,923±0,007
	Selagem	0	_	5,76±0,03	15,26±0,01	64,20±0,20	6,87±0,001	0,942±0,003
	Com	15	0,15±0,06	5,27±0,06	12,10±0,02	55,18±0,01	7,19±0,042	0,936±0,008
	revestimento	30	0,07±0,02	5,27±0,03	14,01±0,01	40,77±0,01	6,61±0,003	0,922±0,003
	Selagem	0	_	5,76±0,03	15,26±0,01	64,20±0,20	6,87±0,001	0,942±0,003
	Sem	15	0,03±0,05	5,43±0,04	11,91±0,01	59,42±0,01	7,73±0,001	0,922±0,004
	revestimento	30	1,12±0,09	5,43±0,04	9,13±0,02	36,36±0,003	6,64±0,001	0,900±0,007

Foi também monitorizado o parâmetro da cor ao longo do estudo do tempo de prateleira. Na **Tabela 16** e na **Tabela 17** exibem-se os resultados obtidos para este parâmetro, relativamente às unidoses de queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado, respetivamente.

Perante o espaço de cor "Cielab", o L significa leveza, o a* diz respeito aos valores vermelho/ verde e o b* é referente ao valores azul/ amarelo.













DOS LO BOS

De acordo com a **Tabela 16** pode-se observar que o valor de L diminuiu ao longo do tempo em todas as condições testadas. Já os valores de a* oscilaram um pouco, tendo aumentado ligeiramente no tempo 15 e descido no tempo 30 para unidoses embaladas a vácuo, enquanto que nas que foram seladas o valor deste parâmetro diminuiu até ao final do estudo. Por fim, o valor de b* aumentou com o decorrer do tempo, exceto nas unidoses com revestimento embaladas a vácuo, que primeiro diminuiu ligeiramente no tempo 15 e, depois registou-se um aumento deste parâmetro no tempo 30. Posto isto, concluiu-se que as unidoses com revestimento foram as que registaram maiores alterações ao nível dos valores azul/amarelo.

Pela análise da **Tabela 17** pode-se concluir que o valor de L diminuiu ao longo do tempo nas unidoses com revestimento e registou-se um valor menor no tempo 15 para as unidoses sem revestimento, que se manteve até ao final do estudo. Já os valores de a* tiveram uma variação, tendo aumentado no tempo 15 e descido no tempo 30 para unidoses embaladas a vácuo, enquanto que nas que foram seladas o valor deste parâmetro diminuiu até à conclusão do estudo. Por fim, o valor de b* oscilou durante o tempo de prateleira, sendo que para todas as condições testadas se verificou um aumento no tempo 15 e uma diminuição de valor no tempo 30. Contudo, as alterações dos valores azul/ amarelo no espaço de cor Cielab foram mais acentuadas para as unidoses com revestimento independentemente do tipo de embalamento.

Tabela 16. Resultados obtidos para o parâmetro da cor durante o estudo de tempo de prateleira do queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado

	Condições	Tempo	L	a*	b*
	Vácuo	0	105,0±1,2	87,5±3,1	20,8±2,2
	Com	15	100,0±1,1	88,5±5,0	18,9±1,9
	revestimento	30	99,0±1,2	80,1±3,581	37,2±6,6
	Vácuo	0	105,0±1,2	87,5±3,1	20,8±2,2
Overtie DOD	Sem revestimento	15	106,0±0,9	88,6±2,8	25,3±8,4
Queijo DOP Amanteigado		30	105,0±1,2	87,9±2,5	25,7±4,0
Amanteigado	Selagem	0	104,0±1,7	87,5±3,1	20,8±2,2
	Com	15	100,0±0,0	85,3±0,9	34,8±1,7
	revestimento	30	97,0±1,25	70,9±0,7	44,1±2,8
	Selagem	0	105,0±1,2	87,5±3,1	20,8±2,2
	Sem	15	105,0±0,5	86,7±0,3	28,1±1,1
	revestimento	30	103,0±0,5	78,5±5,1	29,2±4,5















Tabela 17. Resultados obtidos para o parâmetro da cor durante o estudo de tempo de prateleira do queijo Serra da Estrela DOP Curado

	Condições	Tempo	L	a*	b*
	Vácuo	0	101,0±2,3	81,5±1,5	28,0±5,5
	Com	15	106,0±0,9	91,9±2,3	15,6±6,7
	revestimento	30	98,0±1,63	78,7±3,17	25,3±8,4
	Vácuo	0	101,0±2,3	81,5±1,5	28,0±5,5
	Sem	15	102,0±0,0	88,3±1,3	24,8±4,1
	revestimento	30	102,0±1,4	87,0±2,1	25,4±5,9
Queijo DOP	Selagem	0	101,0±2,3	81,5±1,5	28,0±5,5
Curado	Com	15	101,0±0,8	75,6±5,3	42,3±9,9
	revestimento	30	96,0±3,9	74,0±1,3	25,4±5,9
	Selagem	0	101,0±2,3	81,5±1,5	28,0±5,5
	Sem	15	100,0±0,0	79,7±0,1	38,5±3,5
	revestimento	30	100,0±2,2	73,9±2,5	35,2±2,7

Relativamente ao parâmetro textura, os resultados da monitorização ao longo do estudo do tempo de prateleira das unidoses de queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado são apresentados na Tabela 18 e na Tabela 19, respetivamente. Tendo em conta a Tabela 18 pode-se constatar que a dureza 1 (pico de carga do primeiro ciclo de compressão) e a dureza 2 (pico de carga do segundo ciclo de compressão) diminuíram ao longo do estudo do tempo de prateleira, sendo que o revestimento fez com que os valores de dureza não diminuíssem tanto como os registados para as unidoses sem revestimento. Em relação à coesividade (proporção de A2/A1, sendo que A2 é a área sob o ciclo de compressão do segundo ciclo e A1 é a área sob o ciclo de compressão do primeiro ciclo) verificou-se que este parâmetro aumentou em ambos os tempos de controlo em todas as condições testadas. A elasticidade é uma propriedade mecânica relacionada com a rapidez de recuperação do material após a aplicação de uma força deformante e o modo como o material deformado volta à sua condição inicial. Posto isto, significa que ao longo do tempo as unidoses sujeitas a este estudo podem deformar-se mais facilmente já que se registou uma diminuição do valor deste parâmetro ao longo do tempo do tempo de prateleira. A adesividade é uma medida de aderência e é calculada como área sob o pico negativo conforme a sonda se retira após a primeira compressão. Assim, concluiu-se que as unidoses ao longo do estudo de tempo prateleira vão ficando menos aderentes, pelo que em ambos os períodos de análise se registou uma diminuição do valor deste parâmetro para todas as condições testadas. Através da Tabela 19 pode-se observar que a dureza 1 e a dureza 2 diminuíram ao longo do estudo do tempo de prateleira em todas as condições testadas. Todavia, a aplicação do revestimento nas unidoses fez com que a dureza não diminuísse tanto comparativamente com as que não possuíam revestimento. Relativamente à coesividade













DOS LO BOS

constatou-se que este parâmetro aumentou em ambos os tempos de controlo em todas as condições estudadas. A elasticidade aumentou com o decorrer do tempo de prateleira em todas as situações testadas, o que significa que com o tempo torna-se mais difícil deformarem-se, ao contrário do que o que aconteceu com o queijo Serra da Estrela Amanteigado. Por último, as unidoses com e sem revestimento embaladas vácuo e seladas ficaram menos aderentes, pelo que em ambos os períodos de análise se registou uma diminuição do valor adesividade. É de salientar que no final do estudo de tempo de prateleira as unidoses que apresentaram um valor menor da adesividade face ao valor registado no tempo 0 foram as que possuíam revestimento.

Tabela 18. Resultados obtidos para a textura durante o estudo de tempo de prateleira do queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado

	Condições	Tempo (dias)	Dureza 1 (g)	Dureza 2 (g)	Coesividade	Elasticidade (mm)	Adesividade (mJ)
	Vácuo	0	89,30±0,85	64,67±1,70	0,70±0,03	3,30±0,64	0,58±0,04
	Com	15	79,50±16,68	68,83±13,73	0,95±0,09	2,70±0,37	0,12±0,02
	revestimento	30	18,87±5,15	17,8±1,18	1,12±0,86	0,97±0,25	0,11±0,07
	Vácuo	0	89,30±0,85	64,67±1,70	0,70±0,03	3,30±0,64	0,58±0,04
Queijo DOP	Sem	15	28,5±3,34	24,50±3,24	1,12±0,22	2,17±0,13	0,26±0,05
Amanteigado	revestimento	30	17,80±4,0	15,8±4,30	1,41±0,26	1,60±0,46	0,08±0,05
	Selagem	0	89,30±0,85	64,67±1,70	0,70±0,03	3,30±0,64	0,58±0,04
	Com	15	69,00±17,64	58,68±12,63	0,85±0,05	2,2±0,43	0,06±0,03
	revestimento	30	59,70±9,53	52,7±0,40	0,92±0,42	1,50±0,14	0,05±0,01
	Selagem	0	89,30±0,85	64,67±1,70	0,70±0,03	3,30±0,64	0,58±0,04
	Sem	15	58,83±10,44	51,67±9,60	1,11±0,15	1,6±0,00	0,10±0,02
	revestimento	30	28,20±5,33	24,50±4,50	1,53±0,40	1,50±0,14	0,05±0,01

Tabela 19. Resultados obtidos para a textura durante o estudo de tempo de prateleira do queijo Serra da Estrela DOP Curado

	Condições	Tempo (dias)	Dureza 1 (g)	Dureza 2 (g)	Coesividade	Elasticidade (mm)	Adesividade (mJ)
	Vácuo	0	247,83±26,98	217,17±22,39	0,40±0,11	1,00±0,29	0,35±0,19
	Com	15	91,67±6,86	76,33±9,26	0,81±0,03	1,90±0,25	0,12±0,02
	revestimento	30	71,83±10,54	56,33±7,31	0,86±0,14	2,00±0,42	0,09±0,04
	Vácuo	0	247,83±26,98	217,17±22,39	0,40±0,11	1,00±0,29	0,35±0,19
Queijo	Sem	15	131,33±20,91	100,67±13,93	0,51±0,06	1,50±0,14	0,22±0,02
DOP Curado	revestimento	30	86,67±8,41	68,33±6,84	0,58±0,10	1,60±0,08	0,18±0,07
Curauo	Selagem	0	247,83±26,98	217,17±22,39	0,40±0,11	1,00±0,29	0,35±0,19
	Com	15	183,33±52,32	153,17±48,72	0,56±0,16	1,87±0,13	0,15±0,02
	revestimento	30	152,83±29,92	128,67±24,06	0,65±0,12	2,00±0,36	0,11±0,05
	Selagem	0	247,83±26,98	217,17±22,39	0,40±0,11	1,00±0,29	0,35±0,19
	Sem	15	157,17±21,99	124,67±25,22	0,53±0,03	1,63±0,47	0,29±0,10
	revestimento	30	117,50±6,12	86,67±6,94	0,63±0,23	1,77±0,05	0,14±0,27













DOS LO BOS

No que concerne à evolução dos parâmetros microbiológicos ao longo do estudo do tempo de prateleira das unidoses de queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado, a mesma é apresentada na **Tabela 20** e na **Tabela 21**, respetivamente.

É de salientar que a contagem de enterobactérias substitui, atualmente, a de coliformes, tradicionalmente utilizadas como indicadores de higiene e contaminação após o processamento (Nunes, 2019). A sua presença pode estar relacionada com contaminação de origem fecal (Tornadijo et al., 2001). Considerando que é um indicador de higiene, o desejável é ter resultados o mais baixo possível. Considerando esta informação, foi efetuada a contagem de enterobactérias ao longo do tempo de prateleira. Tendo em conta os resultados apresentados na Tabela 20, pode-se constatar que em todas as condições testadas o valor obtido para a contagem de enterobactérias no final do estudo do tempo de prateleira (tempo 30) foi inferior ao início (tempo 0). Tal facto foi mais notório nas unidoses sem revestimento passando de 10⁶ para 10⁴ no caso das embaladas a vácuo e de 10⁶ para 10⁵ para as seladas. As enterobactérias são microrganismos aeróbios ou anaeróbios facultativos e a redução do valor de ufc/g com o decorrer do estudo pode estar relacionado com facto de algumas enterobactérias poderem ser aeróbias e ter havido uma diminuição da contagem de células cultiváveis porque o queijo foi embalado a vácuo e deixou de existir oxigénio para que estas pudessem sobreviver e proliferar-se. O facto da diminuição do valor de ufc/g ter sido mais acentuado nas unidoses sem revestimento pode ser justificado por o revestimento ter na sua composição uma grande quantidade de água (Bhattacharjee & Dutta, 2019) e açúcares naturais dos extratos de maçã 'Malápio', o que pode ter favorecido a proliferação dessas bactérias (Bhattacharjee & Dutta, 2019).

No caso das unidoses de queijo Serra da Estrela DOP Curado (**Tabela 21**) também se verificou uma diminuição de células cultiváveis ao longo do tempo de prateleira, tendo sido mais notório para as unidoses seladas.

Tabela 20. Evolução dos parâmetros microbiológicos nas unidoses do queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado ao longo do estudo do tempo de prateleira

	Condições	Tempo (dias)	Enterobactérias (ufc/g)	Bactérias ácido-láticas (ufc/g)	Bolores e Leveduras (ufc/g)
Ouelle DOD	Vácuo	0	6,89x10 ⁶	4,46x10 ⁹	1,06x10 ⁵
Queijo DOP Amanteigado	Com	15	8,78x10 ⁶	3,45x10 ¹²	2,70x10 ⁴
	revestimento	30	1,58x10 ⁶	1,35x10 ¹²	1,12x10 ⁴
	Vácuo	0	6,89x10 ⁶	4,46x10 ⁹	1,06x10 ⁵
	Sem	15	1,92x10 ⁴	4,36x10 ¹²	1,49x10 ⁵
	revestimento	30	1,92x10 ⁴	1,06x10 ¹²	9,54x10 ⁴













DOS LO BOS

Selagem	0	6,89x10 ⁶	4,46x10 ⁹	1,06x10 ⁵
Com	15	2,25x10 ⁶	1,34x10 ¹¹	4,31x10 ⁶
revestimento	30	1,07x10 ⁶	6,84x10 ¹⁴	7,25x10 ⁵
Selagem	0	6,89x10 ⁶	4,46x10 ⁹	1,06x10 ⁵
Sem	15	7,70x10 ⁶	5,99x10 ¹²	4,02x10 ⁶
revestimento	30	9,32x10 ⁵	1,13x10 ¹⁵	5,87x10 ⁵

Tabela 21. Evolução dos parâmetros microbiológicos nas unidoses do queijo Serra da Estrela Curado ao longo do estudo do tempo de prateleira

	Condições	Tempo (dias)	Enterobactérias (ufc/g)	Bactérias ácido-láticas (ufc/g)	Bolores e Leveduras (ufc/g)
	Vácuo	0	2,57x10 ²	4,55x10 ⁸	4,23x10 ⁶
	Com	15	1,35x10 ²	1,07x10 ¹⁰	2,19x10 ⁵
	revestimento	30	5,40x10 ¹	1,34x10 ¹⁰	1,16x10 ⁵
	Vácuo	0	2,57x10 ²	4,55x10 ⁸	4,23x10 ⁶
Queijo DOP	Sem	15	2,13x10 ²	8,37x10 ⁹	7,02x10 ³
Curado	revestimento	30	2,13x10 ²	1,26x10 ¹⁰	3,42x10 ³
	Selagem	0	2,57x10 ²	4,55x10 ⁸	4,23x10 ⁶
	Com	15	198,00	3,37x10 ⁹	3,70x10 ⁶
	revestimento	30	9,00	5,67x10 ⁹	1,16x10 ⁵
	Selagem	0	2,57x10 ²	4,55x10 ⁸	4,23x10 ⁶
	Sem	15	175,00	6,53x10 ⁹	2,75x10 ⁶
	revestimento	30	22,50	4,01x10 ⁹	3,39x10 ⁶

Para efeitos comparativos, foi efetuado um levantamento na literatura, relativamente aos valores para a contagem de enterobactérias, bactérias ácido láticas e bolores e leveduras presentes em queijo Serra da Estrela DOP (**Tabela 22**).

Os resultados obtidos por Macedo (2004), Pereira (2005) e Inácio (2013) variaram entre $10^{5,5}$ e 10^8 , sendo valores muito diferentes, no entanto, os valores obtidos para as unidoses do queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado em todas as condições testadas encontram-se dentro deste intervalo (**Tabela 20** e **Tabela 22**). Já os resultados obtidos para as unidoses de queijo Serra da Estrela DOP Curado são muito inferiores aos valores de referência, talvez por se tratar de um queijo com mais dias de maturação (**Tabela 21** e **Tabela 22**).

De acordo com os valores do Instituto Ricardo Jorge para o queijo a contagem de enterobactérias no máximo poderia estar entre 10⁴≤10⁵ (Saraiva *et al.*, 2019) e logo no tempo 0 do estudo de tempo de prateleira os resultados obtidos para as unidoses de queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado foram superiores a este limite, sendo que no final dos 30 dias as ufc/g obtidas para as unidoses embaladas a vácuo encontravam-se abrangidos por este intervalo (**Tabela 20**). No que respeita às unidoses de queijo Serra da Estrela DOP Curado, estas encontram-se no nível satisfatório visto que os valores obtidos para todas as condições foram inferiores a 10⁴ ufc/g (**Tabela 21**).















As bactérias ácido láticas são não patogénicas, mas podem provocar uma alteração de sabor ou outras alterações sensoriais (fermentação e acidificação). A contagem de bactérias ácido láticas pode ser considerada um indicador da frescura do produto e avaliação do prazo de vida útil (Saraiva et al., 2019). À medida que aumenta o tempo de armazenamento, aumenta também a contagem de germes aeróbios mesófilos (Saraiva et al., 2019), e foi o que se verificou para o queijo DOP Amanteigado (Tabela 20), ou seja, o número de ufc/g aumentou em todas condições utilizadas neste queijo ao longo do estudo do tempo de prateleira, tendo sido mais acentuado para as unidoses seladas. No caso das unidoses queijo Serra da Estrela DOP Curado (Tabela 21) o número de ufc/g de bactérias ácido láticas também aumentou com o decorrer do estudo, tendo sido mais notório para as unidoses embaladas a vácuo.

Malcata (1996), Pereira (2005) e Inácio (2013) (**Tabela 22**) encontraram valores entre 10^7 e 10^9 ufc/g para bactérias ácido láticas em queijo, mas os valores obtidos para as unidoses queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado (**Tabela 20**) e Curado (**Tabela 21**) desde o início do estudo de tempo de prateleira que se encontram fora do intervalo. Tendo por base os valores de referência do Instituto Ricardo Jorge, também os valores de ufc/g que se obtiveram desde o tempo 0 do tempo de prateleira se encontram no nível "Não Satisfatório" porque são superiores a 10^7 ufc/g para todas as situações estudadas (Saraiva *et al.*, 2019). Estas diferenças podem ser explicadas pelo período de lactação dos animais, que tem um efeito muito significativo no número de microrganismos presentes no leite, sendo que esse número varia ao longo do ano e com condições de temperatura mais baixa e humidade relativa mais alta, são mais favoráveis ao crescimento das bactérias ácido láticas. Os queijos em estudo foram produzidos no inverno, numa altura em que a temperatura é mais baixa e humidade mais alta, ou seja, são condições que promovem bastante o desenvolvimento de bactérias ácido láticas (Nunes, 2019).

Os **bolores e leveduras** degradam alimentos refrigerados, nomeadamente os queijos. Níveis de leveduras superiores a 10^6 ufc/g podem conferir uma alteração de sabor ao produto e níveis entre $10^6 - 10^7$ ufc/g podem mesmo causar deterioração devido à produção de ácido e de gás. Já os bolores toxigénicos (produtores de micotoxinas) representam um perigo para a saúde do consumidor (Saraiva *et al.*, 2019). Pela análise da **Tabela 20** pode-se concluir que no final dos 30 dias de estudo de tempo de prateleira os valores de ufc/g de bolores e leveduras diminuíram nas unidoses embaladas a vácuo face ao inicial, enquanto que nas unidoses seladas as ufc/g estes aumentaram. As leveduras são aeróbias facultativas enquanto que os bolores são aeróbios estritos e o facto de algumas unidoses terem sido embaladas a vácuo,















deixando de existir uma atmosfera com oxigénio conduziu a uma diminuição da contagem de células cultiváveis porque os bolores necessitam de oxigénio para sobreviver. No caso das unidoses queijo da Serra da Estrela DOP Curado (**Tabela 21**) os valores de ufc/g obtidos ao longo do tempo de prateleira diminuíram para todas as condições testadas, tendo sido mais acentuada nas unidoses embaladas a vácuo e sem revestimento. Malcata (1996), Macedo (2004) e Inácio (2013) (**Tabela 22**) obtiveram valores entre 10³ e 10⁵,5 ufc/g para Bolores e Leveduras. Os valores obtidos no início e no final do estudo tempo de prateleira para as unidoses queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado (**Tabela 20**) encontravam-se abrangidos por este intervalo. Já nas unidoses de queijo da Serra da Estrela DOP Curado (**Tabela 21**), no tempo 0, nenhuma das condições se encontrava abrangida pelo intervalo, contudo no tempo 30 todas as situações testadas passaram a estar englobadas na gama de valores de referência à exceção das unidoses sem revestimento seladas.

Tabela 22. Valores de referência para a contagem de enterobactérias, bactérias ácido láticas e bolores e leveduras presentes em queijo Serra da Estrela DOP

Amostra	Enterobactérias (ufc/g)	Bactérias ácido láticas (ufc/g)	Bolores e leveduras (ufc/g)
Valores de referência	10 ^{6,8} – Macedo, 2004	10 ⁷ – Malcata, 1996	10 ³ – Malcata, 1996
	10 ⁸ – Pereira, 2005	10 ⁹ – Pereira, 2005	10 ^{4,2} – Macedo, 2004
	10 ^{5,5} – Inácio, 2013	10 ⁹ – Inácio, 2013	10 ^{5,5} – Inácio, 2013

Nas tabelas seguintes (**Tabela 23 a Tabela 37**) apresentam-se as colónicas características de enterobactérias, bactérias ácido láticas e bolores e leveduras obtidas para cada tempo de análise do estudo de tempo de prateleira para as unidoses de queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado.

Tabela 23. Colónias características de enterobactérias em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado no tempo 0 do estudo do tempo de prateleira

Enterobactérias						
	t_0					
Queijo DOP Amanteigado		Queijo DOP Curado	Que 10° 21.2222			

















Tabela 24. Colónias características de bactérias ácido láticas em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado no tempo 0 do estudo do tempo de prateleira

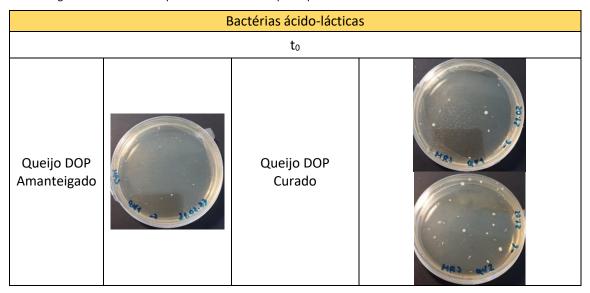


Tabela 25. Colónias características de bolores e leveduras em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado no tempo 0 do estudo do tempo de prateleira

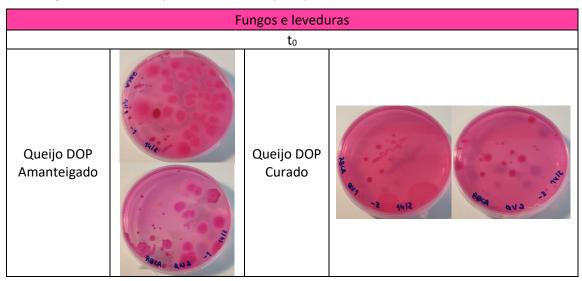
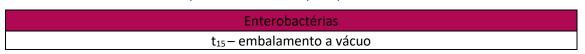


Tabela 26. Colónias características de enterobactérias em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado embaladas a vácuo no tempo 15 do estudo do tempo de prateleira















DOS L O BOS

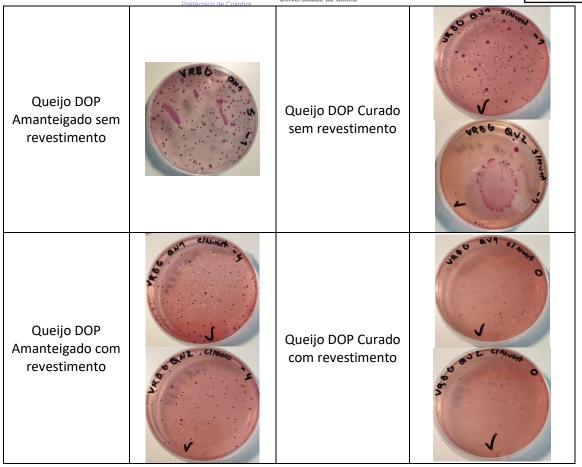
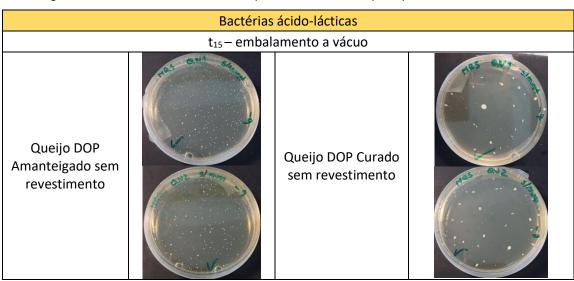


Tabela 27. Colónias características de bactérias ácido láticas em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado embaladas a vácuo no tempo 15 do estudo do tempo de prateleira

















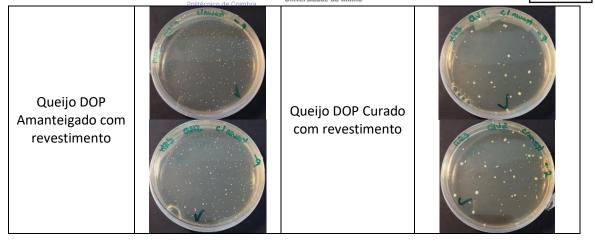


Tabela 28. Colónias características de bolores e leveduras em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado embaladas a vácuo no tempo 15 do estudo do tempo de prateleira

Fungos e Leveduras					
	t ₁₅ – embal	amento a vácuo			
Queijo DOP Amanteigado sem revestimento	S James L	Queijo DOP Curado sem revestimento	Racy of the state		
Queijo DOP Amanteigado com revestimento	Clause 7	Queijo DOP Curado com revestimento	Cushi. One of the cushing the		













DOS LO BOS

Tabela 29. Colónias características de enterobactérias em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado seladas no tempo 15 do estudo do tempo de prateleira

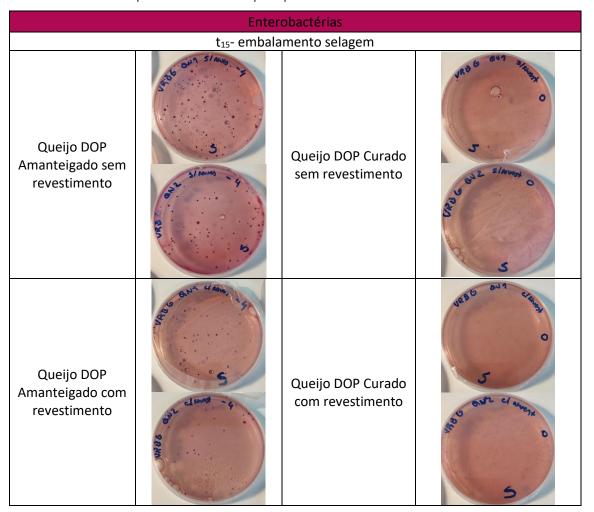


Tabela 30. Colónias características de bactérias ácido láticas em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado seladas no tempo 15 do estudo do tempo de prateleira

Bactérias ácido-lácticas					
	t ₁₅ - embala	mento selagem			
Queijo DOP Amanteigado sem revestimento	S CONZ Stranger	Queijo DOP Curado sem revestimento	The state of the s		















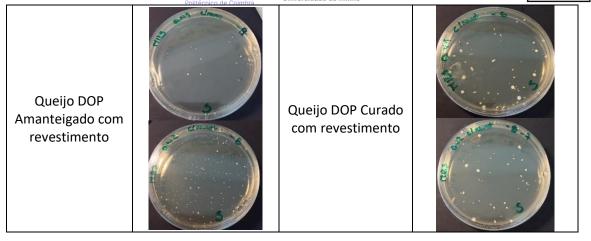


Tabela 31. Colónias características de bolores e leveduras em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado seladas no tempo 15 do estudo do tempo de prateleira

Fungos e Leveduras					
	t ₁₅ - embalamento selagem				
Queijo DOP Amanteigado sem revestimento	SIMPLE STATE OF STATE	Queijo DOP Curado sem revestimento	S Tanger		
Queijo DOP Amanteigado com revestimento	A Sagar Clarent 3	Queijo DOP Curado com revestimento	Clarent Lines		













DOS L O BOS

Tabela 32. Colónias características de enterobactérias em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado embaladas a vácuo no tempo 30 do estudo do tempo de prateleira

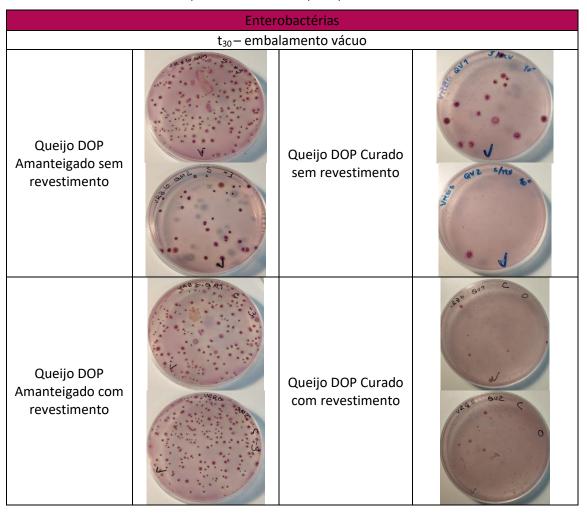


Tabela 33. Colónias características de bactérias ácido láticas em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado embaladas a vácuo no tempo 30 do estudo do tempo de prateleira

Bactérias ácido-lácticas				
	t ₃₀ – emba	lamento vácuo		
Queijo DOP Amanteigado sem revestimento		Queijo DOP Curado sem revestimento		





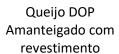


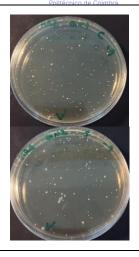












Queijo DOP Curado com revestimento



Tabela 34. Colónias características de bolores e leveduras em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado embaladas a vácuo no tempo 30 do estudo do tempo de prateleira

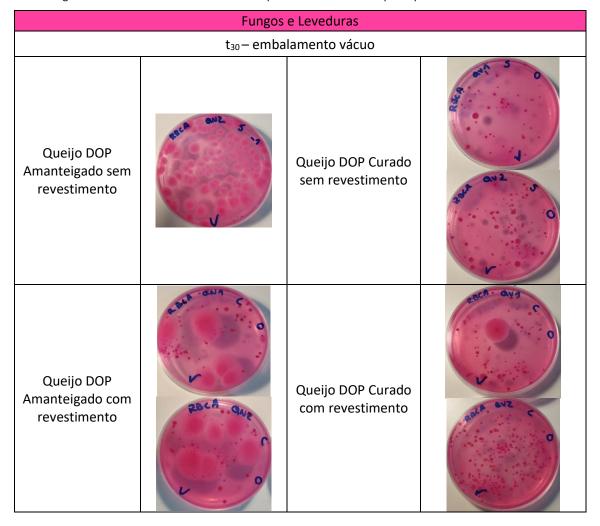


Tabela 35. Colónias características de enterobactérias em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado seladas no tempo 30 do estudo do tempo de prateleira

Enterobactérias















DOS LO BOS

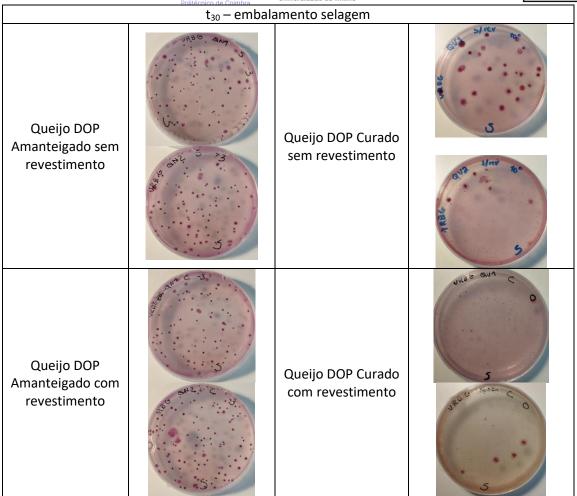
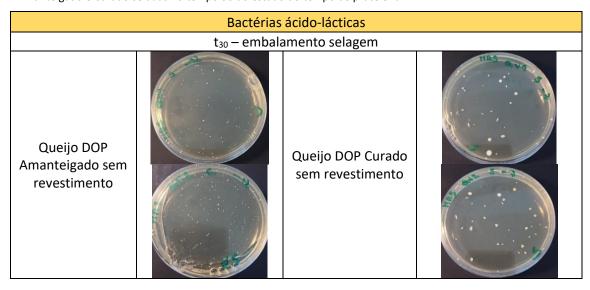


Tabela 36. Colónias características de bactérias ácido láticas em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado seladas no tempo 30 do estudo do tempo de prateleira

















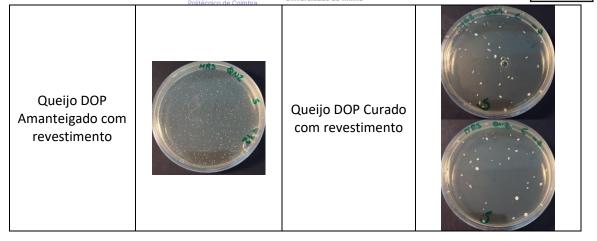
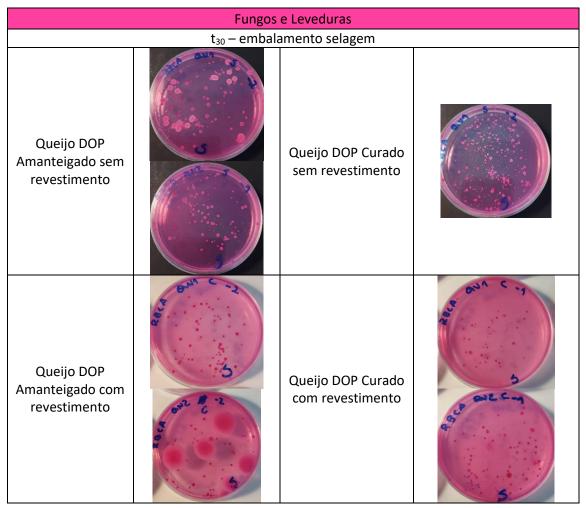


Tabela 37. Colónias características de bolores e leveduras em unidoses de Queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado seladas no tempo 30 do estudo do tempo de prateleira



Perante os resultados obtidos, quer a nível físico-químico quer microbiológico, durante o estudo de tempo de prateleira e analisando globalmente considerou-se que as condições mais favoráveis para as unidoses de queijo Serra da Estrela DOP Amanteigado e Curado foram o















embalamento a vácuo e sem revestimento. Contudo, a aplicação do revestimento melhorou alguns aspetos, nomeadamente a menor variação do pH, da humidade, cinzas, atividade de água e dureza. Após a obtenção destes resultados decidiu-se otimizar o revestimento através da alteração de extrato de maçã 'Malápio' para o extrato de hortelã (*Mentha suaveolens*), do qual se tem evidências de que apresenta potencial antimicrobiano. No âmbito da Iniciativa Nature Bioactive Foods (Grupo Operacional nº 288) estudou-se a atividade antimicrobiana de extratos de *Mentha suaveolens* contra a alguns agentes patogénicos (em particular, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*). Deste estudo concluiu-se que o extrato de hortelã apresenta elevada atividade antimicrobiana, sendo que esta se pode dever ao facto deste extrato possuir elevadas concentrações de ácido rosmarínico e de ácidos cafeoilquínicos. Neste sentido, iniciou-se um novo estudo de tempo de prateleira com unidoses de queijo da Serra da Estrela DOP Amanteigado com e sem revestimento, utilizando embalamento a vácuo e selagem (Figura 4). De momento, os resultados ainda se encontram sob análise perspetivando-se publicar os mesmos num artigo para revistas do setor e científicas.

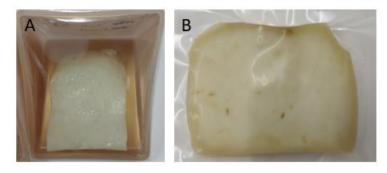


Figura 4. Novo estudo de tempo de prateleira com unidoses de queijo da Serra da Estrela Amanteigado seladas (A) e embaladas a vácuo (B) com revestimento incorporado com extrato de *Mentha suaveolens*.

A análise sensorial apresenta um papel preponderante, porque um produto bemsucedido para além de atender aos parâmetros físicos, químicos e microbiológicos, tem de ir ao encontro das expectativas sensoriais exigidas pelos consumidores. Nesse sentido, a análise sensorial permite avaliar e mensurar os atributos sensoriais como a aparência, odor, sabor e textura dos produtos alimentares, facilitando o conhecimento das exigências sensoriais do consumidor. Tendo em conta o novo ensaio do estudo de tempo de prateleira, incluindo os revestimentos com extrato de *Mentha suavelons*, não foi possível a realização de provas sensoriais considerando as amostras de queijo revestidas, uma vez que este tipo de análise só podia ser realizado após a validação microbiológica. Uma vez que esta análise é morosa, não













DOS LO BOS

houve a possibilidade, durante o período de tempo de execução da Iniciativa, de a finalizar e, consequentemente não foi possível a realização das provas sensoriais nos moldes planeados. Como medida de mitigação, foram realizadas provas sensoriais no dia de realização do Grupo Focal nas instalações da BLC3 (Tarefa 3.1, Atividade 3).















Bibliografia

- AOAC 926.08-1927 Loss on drying (moisture) in cheese. Method I
- Bhattacharjee, C., Dutta, 2019. Novel thermal and non-thermal processing of watermelon juice. Trends in Food Science & Techonology, 93, 234-243.
- Bermudez-Aguirre, D. and G. Barbosa-Canovas, 2011. An update on high hydrostatic pressure, from the laboratory to industrial applications. Food Eng. Rev., 3, 44-61.
- CEQSE-DOP. Caderno de especificações do Queijo Serra da Estrela-DOP, 2011.
- Cho, S., Lee, D. Han, J. 2009. Antimicrobial Packaging. In: The Wiley Encyclopedia of Packaging Technology, Yam, K.L. (Ed.). 3rd Edn., John Wiley and Sons, New York, USA., ISBN-13: 978-0470087046, 50-58.
- Cutter, C. 2006. Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. Meat Sci., 74, 131-142.
- Day, B. 1992. Guidelines for the good manufacturing and handling of modified atmosphere packed food products. Technical Manual No. 34, The Campden Food and Drink Research Association, Chipping Campden, UK.
- Del Nobile, M., Gammariello, D., Conte, A., Attanasio, M. 2009. A combination of chitosan, coating and modified atmosphere packaging for prolonging Fior di latte cheese shelf life. Carbohydr. Polym., 78, 151-156.
- Farkas, D.F. and D.G. Hoover, 2000. High pressure processing. J. Food Sci., 65, 47-64.
- Gammariello, D., A. Conte, S. di Giulio, M. Attanasio and M.A. del Nobile, 2009. Shelf life of Stracciatella cheese under modified-atmosphere packaging. J. Dairy Sci., 92, 483-490.
- Han, J. & Floros, J. 1997. Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. J. Plast. Film Sheeting, 13, 287-298.
- Inácio, A. 2013. Efeito da alta-pressão no queijo Serra da Estrela. Aveiro: Universidade de Aveiro, departamento de guímica. Dissertação de mestrado.
- NP 3277-1:1987 Contagem de bolores e leveduras a 25 °C. IQA Editor: Lisboa
- ISO 15214:1998. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the numeration of mesophilic lactic acid bacteria. Colony-count technique at 30 degrees C.
- ISO 4120:2004. Sensory analysis Methodology Triangle Test.
- ISO 7218:2007. Microbiology of food and animal feeding stuffs General requirements and guidance for microbiology examination.
- ISO 11136:2014. Sensory analysis Methodology General guidance for conducting hedonic tests with consumers in a controlled area.















- ISO 21528-2:2017. Microbiology of the food chain Horizontal method for the detection and enumeration of *Enterobacteriaceae* Part 2: Colony-count technique.
- Kallinteri, L., Kostoula, O., Savvaidis, I. 2013. Efficacy of nisin and/or natamycin to improve the shelf-life of Galotyri cheese. Food Microbiol., 36: 176-181.
- Kilcast, D. & Subramaniam, P. 2011. Food and Beverage Stability and Shelf Life. 1st Edn., Woodhead Publishing, Cambridge, UK., ISBN-13: 978-1845697013, 864.
- Macedo, A., Tavares, T., Malcata, F. 2004. Influence of native lactic acid bacteria on the microbiological, biochemical and sensory profiles of Serra da Estrela cheese. Food Microbiology 21, 233-240.
- Malcata, F., Macedo, A., Sousa, M. 1996. Perspetivas científico tecnológicas na caracterização e melhoramento do Queijo Serra da Estrela. Terra Fértil. (dezembro), 2, 25-32.
- Martinez-Rodriguez, Y., Acosta-Muniz, C., Olivas, G., Guerrero-Beltran, J., Rodrig-Aliaga, D. Sepulveda, D. 2012. High hydrostatic pressure processing of cheese. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf., 11, 399-416.
- Nadarajah, D., Han, J. Holley, R. 2005. Use of mustard flour to inactivate *Escherichia coli* O157: H7 in ground beef under nitrogen flushed packaging. Int. J. Food. Microbiol., 99, 257-267.
- Nunes, J. 2019. Controlo de qualidade de recursos endógenos. (Relatório de estágio para a obtenção do grau de licenciado). Instituto Politécnico de Castelo Branco.
- Pereira, C. 2005. Projeto №312 Utilização de tecnologias de membrana para a melhoria da qualidade higiénica dos leites crus de ovelha/cabra e para a minimização do impacto ambiental dos efluentes de queijaria. Coimbra: Instituto Politécnico de Coimbra
- Rodrigues, E. & Han, J. 2000. Antimicrobial whey protein films against spoilage and pathogenic bacteria. Proceedings of the IFT Annual Meeting, Dallas, Tex, June 10-14, 2000, Institute of Food Technologists, Chicago, IL., pp: 191-191.
- Rodrigues, E., Han, J., Holley, R. 2002. Optimized antimicrobial edible whey protein films against spoilage and pathogenic bacteria. Proceedings of the IFT Annual Meeting Book of Abstracts, June 15-19, 2002, Institute of Food Technologists, Chicago, IL., 252.
- Saraiva, M., Correia, C., Cunha, I., Maia, C., Bonito, C., Furtado, R., Calhau, M. 2019. Interpretação dos resultados de ensaios microbiológicosem alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição. Valores-guia. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge.
- Skandamis, P. & Nychas, G. 2000. Development and evaluation of a model predicting the survival of *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs and oregano essential oil concentrations. Applied Environ. Microbiol., 66, 1646-1653.















- Tavaria, F. & Malcata., F 1996. Queijo Serra da Estrela: Avaliação microbiológica ao longo da região. Terra Fértil. (dezembro), 2, 21-24.
- Tenreiro, M. 2014. Estudo das propriedades físico-químicas do queijo Serra da Estrela. Viseu: Instituto Politécnico de Viseu, Escola Superior Agrária. Dissertação de mestrado.
- Choy, Y., Oh, S., Kang, J. 2001. Application of RAPD Methods in Meat for Beef Breed identification. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. https://doi.org/10.5713/ajas.2001.1655
- Tornadijo, M., García, M., Fresno, J. Carballo, J. 2001. Study of Enterobacteriaceae during the manufacture and ripening of San Simón cheese. Food Microbiology 18, 499-509.
- Vermeiren, L., Devlieghere, F., Van Beest, M., Kruijf, N., Debevere, J. 1999. Developments in the active packaging of foods. Trends Food Sci. Technol., 10, 77-86.





