

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO TIPO FRESCAL DE
LEITE DE BÚFALA ENRIQUECIDO COM MANJERICÃO
(*Ocimum basilicum* L.)

Autora: Jessyca Caroline Rocha Ribas
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Lúcia Maria Zeoula
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Paula Toshimi
Matumoto Pinto

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro – 2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO TIPO FRESCAL DE
LEITE DE BÚFALA ENRIQUECIDO COM MANJERICÃO
(*Ocimum basilicum* L.)

Autora: Jessyca Caroline Rocha Ribas
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Lúcia Maria Zeoula
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Paula Toshimi
Matumoto Pinto

“Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá – Área de Concentração: Produção Animal”

MARINGÁ
Estado do Paraná
Fevereiro – 2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

R482d Ribas, Jessyca Caroline Rocha
Desenvolvimento de queijo tipo frescal de leite de búfala enriquecido com manjericão (*Ocimum basilicum* L.) / Jessyca Caroline Rocha Ribas. -- Maringá, 2017.
61 f. : il., figs., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Lúcia Maria Zeoula.
Coorientadora: Profa. Dra. Paula Toshimi Matumoto Pinto.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2017.

1. Queijo frescal - Leite de búfala. 2. Manjericão (*Ocimum basilicum* L.). 3. Queijo frescal - pH. 4. Atividade antioxidante. 5. Polifenóis. 6. Análises sensoriais. I. Zeoula, Lúcia Maria, orient. II. Pinto, Paula Toshimi Matumoto. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

CDD 21.ed.637.3

ECSL



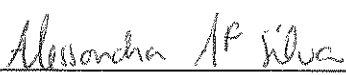
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO TIPO FRESCAL DE
LEITE DE BUFALA ENRIQUECIDO COM MANJERICAO
(*OCIMUM BASILICUM* L.)**


Autora: Jessyca Caroline Rocha Ribas
Orientador: Prof Dra Lúcia Maria Zeoula

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 23 de fevereiro de 2017.



Profª Drª Alessandra Aparecida
Silva



Profª Drª Marina Tolentino
Marinho



Profª Drª Lúcia Maria Zeoula
(Orientador)

A Deus por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades.

As minhas avós, Janete Regina Ribas e Maria de Jesus Ribeiro da Rocha (*in memoriam*).

Aos meus pais, Valdelice Ribeiro da Rocha e Cláudio Daniel Ribas por terem me dado força e apoio em todas as dificuldades.

Ao meu noivo, Welington Zapszalka por toda paciência, companheirismo e carinho.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Universidade Estadual de Maringá pela oportunidade e a Instituição Financiadora CAPES pela bolsa de estudos.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Lucia Maria Zeoula e a minha coorientadora Prof.^a Dr.^a Paula Toshimi Matumoto Pinto pela orientação, vocês são meus exemplos profissionais. E a todos os professores da instituição.

Agradeço ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP), ao IAPAR-Lapa-PR por ter gentilmente fornecido o leite de búfala, essencial para a execução deste trabalho.

Agradeço a todos do grupo de pesquisa em Alimentos Funcionais e aos meus amigos que me ajudaram na execução deste projeto: Erica, Nadine, Bruna, Carol Vital, Bianka, Fernando, Ruth, Emerson, Talita, Janaina e Mariana.

Agradeço aos membros da banca, Prof.^a Dr.^a Marina Tolentino Marinho e Prof.^a Dr.^a Alessandra Aparecida Silva que trouxeram contribuições valiosas para a melhoria do trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

JESSYCA CAROLINE ROCHA RIBAS, filha de Cláudio Daniel Ribas e Valdelice Ribeiro da Rocha, nasceu em Ponta Grossa, Paraná, no dia 5 de junho de 1992.

Em agosto de 2014, concluiu o curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Em março de 2015, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de alimentos funcionais.

No dia 23 de fevereiro de 2017, submeteu-se à banca para defesa da Dissertação.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE APÊNCICE	xi
RESUMOxii
ABSTRACT.....	.xiii
INTRODUÇÃO	1
LITERATURA CITADA	15
OBJETIVOS GERAIS.....	23
III. Influência da adição de manjeriço nas características funcionais de queijos tipo frescais elaborados com leite de búfala	
Resumo	24
Introdução	25
Materiais e métodos	26
Resultados e Discussão.....	31

Conclusão	37
Referências	37

IV- Influência da adição de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) nas características tecnológicas de queijo tipo frescal de leite de búfala

Resumo	43
Introdução	43
Materiais e métodos	44
Resultados e discussão.....	47
Conclusões.....	55
Referências	55
CONSIDERAÇÕES FINAIS	59

LISTA DE TABELAS

	Página
I - INTRODUÇÃO	
Tabela 1 Composição do leite bubalino obtido por diversos autores	10
Tabela 2 Composição fenólica do manjericão relatada por vários autores.....	14
III. Influência da adição de manjericão nas características funcionais de queijos tipo frescais elaborados com leite de búfala	
Tabela 1 Fragmentação dos compostos fenólicos do manjericão estudado por cromatografia líquida de alta performance (HPLC).....	33
Tabela 2: Polifenóis totais e atividade antioxidante de queijos de búfala tipo frescais elaborados com concentrações crescentes de manjericão.....	35
Tabela 3: Contagem de coliformes totais, <i>S. aureus</i> e <i>Salmonella sp.</i> em queijos tipo frescais, em duplicata, com 21 dias de armazenamento a 4°C.....	36
Tabela 4: Análise sensorial de queijos tipo frescais elaborados com leite bubalino e enriquecidos com manjericão.....	37
IV- Influência da adição de manjericão (<i>Ocimum basilicum</i> L.) nas características tecnológicas de queijo tipo frescal de leite de búfala	
Tabela 1: Composição físico-química do leite bubalino e do manjericão utilizados para elaboração dos queijos tipo frescal.....	45
Tabela 2: Composição química dos queijos de acordo com as formulações, expresso em g/100 g de MS.....	48

Tabela 3: pH e acidez titulável de queijos tipo frescal elaborados com diferentes quantidades de manjericão, no período de 1 até 21 dias de armazenamento a 4 °C....	49
Tabela 4: Caracterização da cor de queijos elaborados com manjericão.....	51
Tabela 5: Parâmetros de dureza, coesividade, elasticidade e mastigabilidade dos queijos formulados.....	52

LISTA DE FIGURAS

	Página
III. Influência da adição de manjeriço nas características funcionais de queijos tipo frescos elaborados com leite de búfala	
Figura 1: Cromatograma de extrato de manjeriço a 275 nm.....	32
IV- Influência da adição de manjeriço (<i>Ocimum basilicum</i> L.) nas características tecnológicas de queijo tipo fresco de leite de búfala	
Figura 1: Imagens de microscopia eletrônica de varredura de queijos com dez dias de armazenamento.....	54
Figura 2: fotos dos queijos tipo fresco com 1 dia de armazenamento nas quatro concentrações de manjeriço.....	54

RESUMO

Objetivando-se avaliar as características funcionais e tecnológicas de queijos tipo frescal elaborados com leite de búfala e enriquecidos com manjericão (*Ocimum basilicum* L.), foi conduzido um experimento no qual se adicionou 0; 2,5; 5,0 e 7,5 g/kg de manjericão fresco aos queijos e avaliou-os durante 21 dias de armazenamento. Não houve alterações nos teores de umidade, gordura, proteína e matéria mineral dos queijos elaborados. Porém, a inclusão de manjericão elevou o teor de polifenóis totais e atividade antioxidante, com maiores efeitos nos queijos elaborados com 5,0 e 7,5 g/kg de manjericão. O pH dos queijos reduziu com a adição de maiores concentrações de manjericão sob influência dos compostos fenólicos que estimularam o crescimento de lactobacilos. Houve baixo crescimento de coliformes totais e *Staphylococcus aureus* e ausência de *Salmonella sp* em queijos com 21 dias de armazenamento. A cor dos queijos formulados com manjericão apresentou-se com menor luminosidade, maior proximidade ao verde e amarelo. A inclusão de manjericão alterou a dureza e mastigabilidade dos queijos e a microestrutura mostrou-se menos homogênea, com espaçamentos maiores e com superfícies mais grosseiras em relação aos queijos controle. As análises sensoriais tiveram notas entre 6 (gosto ligeiramente) e 7 (gosto moderadamente) com preferência aos queijos adicionados de 2,5 e 5,0 g/kg de manjericão. O manjericão possui potencial de uso na elaboração de queijos funcionais, pois possui uma boa aceitabilidade do consumidor e pode afetar as características tecnológicas e funcionais dos queijos tipo frescal, com maiores efeitos para as concentrações mais elevadas.

Palavras-chave: análises sensoriais, atividade antioxidante, microestrutura, pH, polifenóis

ABSTRACT

In order to evaluate the functional and technological characteristics of Frescal cheese made with buffalo milk and enriched with basil (*Ocimum basilicum* L.), an experiment was conducted in which 0; 2.5; 5.0 and 7.5 g / kg of fresh basil was added to the cheese and evaluated during 21 days of storage. There were no changes in the moisture, fat, protein and mineral content of the processed cheese. However, the inclusion of basil increased total polyphenol content and antioxidant activity, with higher effects in cheese made with 5.0 and 7.5 g / kg of basil. The pH of the cheese decreased with the addition of higher basil concentrations under the influence of the phenolic compounds that stimulated the growth of lactobacilli. There was low growth of total coliforms and *Staphylococcus aureus* and absence of *Salmonella sp* in cheeses with 21 days of storage. The color of the cheese formulated with basil showed lower luminosity, closer proximity to green and yellow. The inclusion of basil altered the hardness and chewiness of the cheese and the microstructure was less homogeneous, with larger spacing and with rougher surfaces in relation to the control cheese. Sensory analysis had scores between 6 (slightly) and 7 (moderate taste) with preference for cheese with the addition of 2.5 and 5.0 g / kg of basil. Basil has potential for use in the preparation of functional cheese, because it has good consumer acceptability and can affect the technological and functional characteristics of Frescal cheese, with greater effects at higher concentrations.

Key words: sensory analysis, antioxidant activity, microstructure, pH, polyphenols

I- INTRODUÇÃO

O queijo

De acordo com a Portaria nº 146 de 07 de março de 1996 o queijo é o produto obtido através da separação parcial do soro do leite através da ação física de agentes coagulantes, enzimas específicas, bactérias específicas e ácidos orgânicos, podendo ser consumido fresco ou maturado acrescentado ou não de especiarias, aditivos, aromatizantes e corantes (Brasil, 1996).

Os queijos possuem alto valor nutricional, aromas e sabores apreciáveis, sendo consumidos em praticamente todo o mundo. Conforme International Dairy Federation and Statistics Canada (2016), os maiores consumidores de queijos se encontram na França, Finlândia, Islândia, Dinamarca e Alemanha com consumo entre 26,8 e 24,6 kg per capita no ano de 2015. O Brasil teve pouco destaque, com consumo de 3,8 kg per capita em 2015. Em 2016, espera-se que o consumo per capita de queijos nos países em desenvolvimento cresça em média 0,8% por ano e nos países desenvolvidos, o consumo deverá crescer 0,5% ao ano para produtos lácteos frescos e 1,1% ao ano para leite em pó (FAO, 2016).

No Brasil, apesar de cerca de 11 bilhões de litros de leite/ ano sejam destinados à produção de queijos (sem considerar o mercado informal), o país ainda importa 21 mil litros de leite (Zoccal, 2016). No mercado informal, ainda predominante em pequenas cidades do país, 6 bilhões de litros de leite são transformados em queijos, com predomínio do queijos minas frescal, minas padrão e mussarela (Zoccal, 2016). De acordo com as projeções realizadas pela *Organization for Economic Cooperation and Development* (OECD) e *Food and Agriculture Organization* (FAO), *Agricultural Outlook 2015 – 2024* (2015) o Brasil deverá produzir, em 2016, 761,21 mil toneladas de queijo. Entre 2016 e 2024, a produção de queijo deverá aumentar 13,9% (+ 1,6% ao

ano) alcançando 867,15 mil toneladas no final do período (CONAB, 2016). Com o mercado em ascensão, a fabricação de queijos finos ou diferenciados, enriquecidos com especiarias, elaborados com leite de cabra ou búfalas é uma excelente alternativa para conquistar mais consumidores.

Processo de fabricação de queijos

Os processos de fabricação e de maturação dos queijos envolvem uma série de eventos bioquímicos e microbiológicos os quais são responsáveis por existirem cerca de 1000 variedades diferentes (Fox, O'Connor, Mcsweeney, Guinee, & O'Brien, 1996). O processo de fabricação é complexo, nele há várias etapas (figura 1) e transformações bioquímicas, todas essas variáveis afetam o rendimento, composição, a qualidade do queijo e seus subprodutos (predominantemente soro) (Walstra et al., 2006).

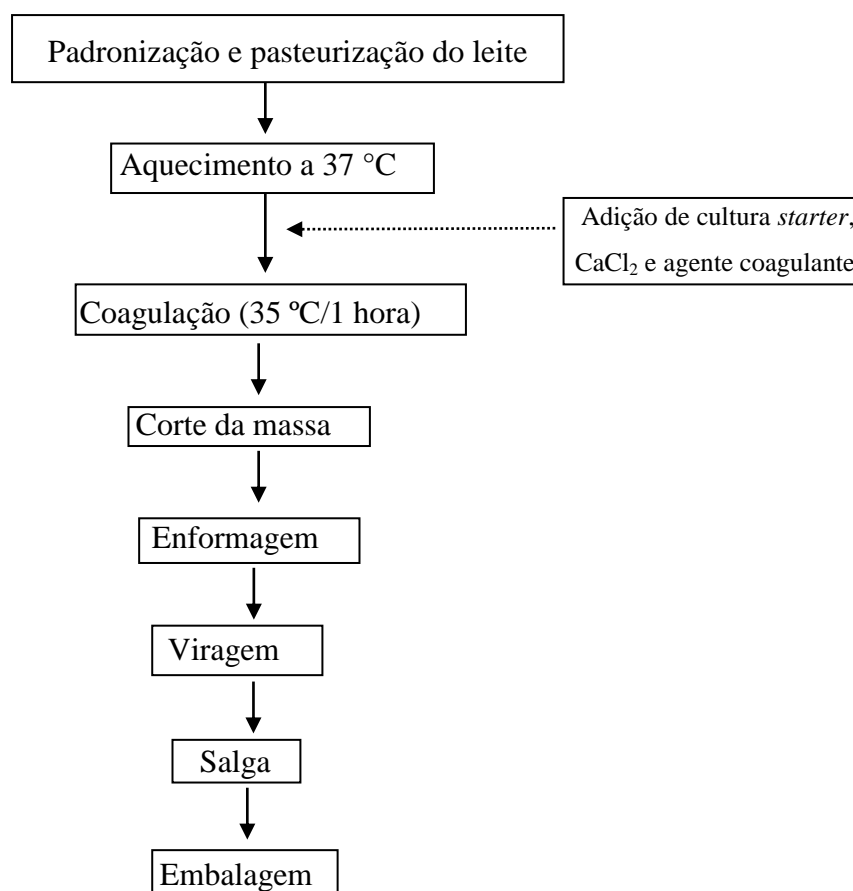


Figura 1: Fluxograma do processo de fabricação de queijos.

A primeira etapa da fabricação de queijos é a padronização do leite para otimizar a relação gordura e proteína garantindo sua qualidade e rendimento (Nyberg, 2016). Após, é realizada a pasteurização para eliminação de microrganismos patogênicos.

No Brasil, devido à baixa qualidade do leite produzido em razão de condições de produção, conservação e transporte do leite cru, antes de chegar à indústria (Dürr, 2004), a produção de queijos com leite cru é limitada. Queijos elaborados com leite cru, maturados com menos de 60 dias, podem ser fabricados e consumidos se estudos técnico-científicos comprovarem que a redução do período de maturação não compromete a qualidade e a inocuidade do produto (Brasil, 2013).

A pasteurização é realizada preferivelmente à 65°C por 30 minutos. Se realizada na temperatura de 72-75 °C ou acima por 15 minutos ocorre redução da quantidade de proteínas solúveis, aumentando a viscosidade do leite, com insolubilização e rompimento do equilíbrio entre os sais de cálcio e fósforos solúveis e coloidais, dificultando a ação do coagulante e a formação do coágulo (Paula; Carvalho & Furtado, 2009).

No processo de fabricação de queijos com leite pasteurizado, ocorre a adição de cloreto de cálcio, pois, no processo de pasteurização, parte do Ca se insolubiliza o que influencia negativamente o tempo de coagulação e a firmeza do coágulo (McSweeney, 2007). Na fabricação, ocorre ainda a adição de bactérias ácido-lácticas (predominantemente espécies de *Lactococcus*), contribuindo para o desenvolvimento do sabor, aroma e da textura, pois convertem a lactose do leite em ácido láctico diminuindo o pH para valores próximos a 5.1 (Barbosa-Cánovas et al., 2006) além de evitar o crescimento de microrganismos patogênicos nos queijos (Fox, Guinee, Cogan & McSweeney, 2000).

A coagulação do leite é a etapa fundamental para a elaboração de queijos. Para isso, o coalho ou agente coagulante é adicionado ao leite a 32-35 °C que permite boa ação enzimática do coalho e o crescimento da cultura láctica (Krolow & Ribeiro, 2006). A dose varia conforme as recomendações do fabricante. Os coalhos mais utilizados são obtidos do estômago de animais: quimosina e pepsina (Paula, Carvalho & Furtado, 2009).

Durante a fabricação do queijo, o leite é submetido a uma desidratação parcial, com expulsão do soro e concentração dos componentes não solúveis. O processo de coagulação do leite ocorre em duas etapas: a primeira é a hidrólise da kappa-caseína (quebra da ligação peptídica Fenilalanina 105 – Metionina 106) pela ação do coalho ou de agentes coagulantes; e a segunda etapa é a agregação das caseínas com o fosfato de cálcio sob a forma de uma rede de géis que envolve a gordura e expulsa o soro. Esses eventos ocorrem por acidificação (por fermentação de lactose do leite em ácido láctico

pelas culturas bacterianas adicionadas), temperatura elevada e devido a várias operações mecânicas (McSweeney, 2007; Law & Tamime, 2010).

A sinérese é um processo importante na fabricação de queijos, pois queijos com maior umidade são mais propícios à ação de microrganismos. A taxa e a extensão da sinérese são controladas pela composição do leite, especialmente a concentração de íons de cálcio, o pH do soro, a temperatura de cozimento, a taxa e o tempo de mexedura (Malin & Tunick, 1995).

Seguindo o processo de fabricação, ocorre o corte e a prensagem que são importantes para aumentar a expulsão do soro. O corte é realizado através de liras horizontais e verticais no qual o tamanho dos grãos dependem do tipo de queijo produzido. Quanto maior o tamanho dos grãos cortados, maior o índice de umidade do queijo formado (Barbosa, 2014). A pré prensagem e a prensagem final são realizadas apenas em queijos maturados para conferir o formato desejado, aumentar a sinérese e promover a formação da casca. As variações no tempo e pressão de prensagem são comandadas pelo tamanho do queijo, umidade desejada e temperatura de prensagem (Krolow & Ribeiro, 2006).

A salga pode ser feita após a primeira viragem da massa, esfregando o sal seco na superfície externa do queijo ou mergulhando-o em salmoura. O sal confere sabor, controla o desenvolvimento microbiano, regula os processos bioquímicos (enzimas) e físico-químicos, a durabilidade, entre outros, podendo ser realizada no leite, na massa, em salmoura e a seco (Paula, Carvalho & Furtado, 2009).

Os queijos podem ser consumidos frescos (curto período de validade) ou maturados por períodos que variam de duas semanas a dois anos (Law & Tamime, 2010). A portaria nº 146 de 07 de março de 1996 define queijo fresco como aquele que está pronto para consumo logo após sua fabricação e define por queijo maturado o que sofreu as trocas bioquímicas e físicas necessárias e características da variedade do queijo (Brasil, 1996).

Os queijos que passam pelo processo de maturação, sofrem várias mudanças bioquímicas como glicólise, lipólise e proteólise através da ação de vários agentes, principalmente microrganismos (Shojaei & Sani, 2015). Estas mudanças bioquímicas durante o período de maturação são reguladas pelo conteúdo de umidade, sal e microflora conduzindo a grande diversidade de sabores, aromas e texturas o que justifica a grande diversidade de queijos existentes (Malin & Tunick, 1995).

Características do queijo frescal

Os queijos tipo frescais estão entre os mais apreciados e consumidos no Brasil graças ao seu alto rendimento, custo acessível, fabricação simples e rápida (Sant'ana, Bezerril, Madruga, Batista, Magnani, Souza & Queiroga, 2013). O queijo Minas frescal é caracterizado pela Instrução Normativa nº 04 de 2004 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2004) como: “*O queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas*”. É um queijo semigordo (25,0 a 44,9% de gordura no extrato seco), de muito alta umidade (maior que 55,0%).

Como características físicas, devem possuir consistência branda, macia, textura com ou sem olhaduras mecânicas, cor esbranquiçada, sabor suave ou levemente ácido, odor suave, forma cilíndrica, peso de 0,3 a 5 kg (Brasil, 2004). O uso de culturas lácticas nesse tipo de queijo faz com que apresente pH entre 5,0 e 5,3 (Silva, 2005). Como ingredientes opcionais, podem-se acrescentar: cultivos de bactérias lácteas ou outros microrganismos específicos, cloreto de sódio, cloreto de cálcio, caseína, caseinatos, sólidos de origem láctea, condimentos ou outros ingredientes opcionais permitidos somente conforme o previsto, explicitamente, nos padrões individuais definidos para variedade de queijo (Brasil, 1996).

Os queijos frescais são produzidos normalmente de maneira artesanal, não são submetidos à cura e possuem baixa porcentagem de sal. É um produto que apresenta vida de prateleira curta mesmo sob condições adequadas de refrigeração (Visotto, Oliveira, Prado & Bergamini, 2011). A curta vida de prateleira deve-se a alta contaminação por microrganismos em virtude de alguns fatores como: alta contagem bacteriana no leite *in natura*, pasteurização inadequada ou ausente, condições inadequadas de higiene na fabricação, salmoura contaminada e más condições de refrigeração. O uso de coagulantes fúngicos pode diminuir a durabilidade dos queijos também, estes coagulantes são mais proteolíticos e tendem a degradar a caseína mais rapidamente, amolecendo e amarelando o queijo (Hansen, 2008).

Conforme os padrões microbiológicos vigentes, da Resolução Colegiada (RDC) nº12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), queijos com muita alta umidade devem apresentar as tolerâncias máximas para amostras indicativas de: 5×10^2 Número mais provável (NMP) de coliformes a 45°C/g, 5×10^2 para *Staphylococcus*

coagulase positiva/g, ausência de *Salmonella sp* em 25 g e ausência de *Listeria monocytogenes* em 25 g (Brasil, 2001).

O principal defeito que pode ser encontrado no queijo frescal é o gosto amargo, sendo mais comum nos queijos fabricados com coagulantes fúngicos e sem utilização de culturas láticas. Não havendo presença abundante de bactérias láticas, há uma tendência de acúmulo de peptídeos de baixo peso molecular que apresentam gosto amargo (Hansen, 2008).

Propriedades reológicas dos queijos

A textura é uma variável considerada pelo consumidor como determinante da qualidade e preferência global do queijo (Allen Foegeding, Brown, Drake, & Daubert, 2003). Podemos definir textura como a manifestação sensorial e funcional das propriedades estruturais, mecânicas e superficiais dos alimentos detectados através dos sentidos da visão, da audição, do toque e da cinestesia (Szczeniak, 2002).

A avaliação da textura pode ser realizada através de painel sensorial e de equipamentos reológicos. Na análise através de painel sensorial, os alimentos são avaliados conforme as características percebidas pela boca (força aplicada), atributos geométricos (forma, tamanho e orientação das partículas dentro do alimento) e percepções em relação à umidade e ao teor de gordura (Szczeniak, 2002).

Nos queijos, a mastigação é a variável mais importante. A mastigação envolve força e deformação, manipulação do alimento mastigado com a língua e a mistura com a saliva, sendo essas últimas atualmente irreprodutíveis por instrumentação (Foegeding & Drake, 2007). Seres humanos treinados são os melhores instrumentos para a avaliação de textura, porém, avaliações de textura envolvendo humanos possuem problemas de reprodutibilidade, metodologia, problemas fisiológicos e psicológicos (Brady & Mayer, 1985). Desta forma, a textura instrumental ainda é largamente utilizada.

No estudo de textura instrumental, é comum utilizar-se de um texturômetro para determinar-se o perfil de textura (TPA – Texture Profile Analysis), ele possui rapidez, reprodutibilidade e é de fácil padronização (Brady & Mayer, 1985). A análise de TPA possui elementos de arbitrariedade em seu delineamento, que variam pelo tipo, tamanho e qualidades da amostra, e configurações de operação do texturômetro (Pollard, Sherkat, Seuret, & Halmos, 2003). Nesta avaliação, a amostra é submetida a dois ciclos de compressão e os dados obtidos podem ser mostrados através de representação gráfica dos atributos de interesse, de acordo com Dagostin (2011):

- Dureza: força necessária para atingir determinada deformação;
- Coesividade: resistência das ligações internas que compõem o corpo do produto;
- Mastigabilidade: energia necessária para mastigar uma amostra até estar pronta para deglutição;
- Elasticidade: velocidade com que um material deformado volta a sua condição original após ser retirada a força deformante;
- Adesividade: quantidade de força para simular o trabalho necessário para sobrepor a forças de atração entre a superfície do alimento e a superfície em contato com este;
- Gomosidade: energia requerida para se desintegrar um alimento semi sólido ao ponto de deglutição

As propriedades físicas do queijo, como corpo/textura, derretimento/extensão são influenciadas por vários fatores inerentes a qualidade e composição do leite, temperatura de pasteurização, atividade enzimática e o pH da massa e a relação entre a caseína, umidade e condições de maturação (Paula, Carvalho & Furtado, 2009; Lawrence, Creamer, & Gilles, 1987). Desta forma, a avaliação da textura torna-se ferramenta indispensável quando se desenvolve novos tipos de queijos.

O uso do leite bubalino para fabricação de queijos

O teor de sólidos totais médio de 16.38 ± 1.01 (Gürler, Kuyucuoglu, & Pamuk, 2013), a coloração branca e sabor adocicado têm despertado em laticínios o interesse em utilizar o leite bubalino para produção de derivados como os queijos mussarela, cottage, parmesão, ricota, frescal e requeijão além de iogurtes, manteiga e bebidas lácteas (Bernardes, 2007).

O alto valor nutritivo dos produtos elaborados com o leite bubalino também merecem destaque. O consumo do queijo mussarela elaborado com leite de búfala foi capaz de promover o crescimento e desenvolvimento de ratos alcançando resultados comparáveis à dieta a base de caseína. Os mesmos resultados não foram obtidos com queijo Mussarela produzido com leite de vaca. Além disso, os níveis de colesterol no sangue foram menores nos ratos que consumiam queijo bubalino (Verruma-Bernardi et al., 2009).

O leite bubalino possui concentração maior de ácido linoléico conjugado (CLA) em relação ao leite bovino, que se deve à maior atividade da enzima $\Delta 9$ -dessaturase na glândula mamária (Fernandes, Mattos, Matarazzo, Tonhati, Sundfeld Gama, & Lanna 2007). A inclusão de alimentos ricos em CLA na dieta humana pode trazer inúmeros benefícios. O CLA tem sido relatado por possuir atividade anti-carcinogênica, prevenindo e atacando células tumorais, reduzindo tumores previamente formados, e inibindo a síntese de gorduras no organismo (Fernandes, Mattos, Matarazzo, Tonhati, Sundfeld Gama, & Lanna 2007).

O leite bubalino apresenta geralmente baixo teor de células somáticas, pois a glândula mamária das búfalas apresenta maior resistência a processos infecciosos, como a mastite. Além das características anatômicas, há maior quantidade de agentes protetores no teto, como a queratina, lactoferrina, lactoperoxidase e melanina e maior eficácia antibacteriana dos leucócitos (Araujo & Gheller, 2005). Em situação de elevada contagem de células somáticas no leite, alteram-se consideravelmente a produção do animal e a composição do leite e o rendimento industrial de derivados se reduz, afetando a textura dos produtos, aumentando a perda de sólidos no soro e o tempo de formação do coágulo (Müller, 2002).

O rendimento dos derivados lácteos produzidos com leite de búfalas é maior, pois as caseínas possuem tamanho de 190 nm, sendo de 10 a 20 nm maior que as caseínas do leite bovino (Ahmad, 2010). Como exemplo, um quilo de queijo coalho é produzido com cinco litros de leite bubalino contra sete litros de leite bovino (Vieira & Lourenço Júnior, 2006).

Yildirim & Erdem (2015) observaram menor tempo de coagulação do leite bubalino quando comparado com leite caprino, ovino e bovino. Quando o período de coagulação foi dividido em duas fases, o leite bubalino completou ambas as fases mais facilmente que outros leites. A viscosidade do leite e tensão da coalhada também são mais elevadas em relação ao leite bovino (El-Salam & El-Shibiny, 2011).

O leite bubalino contém inúmeras características desejáveis para o consumo humano e produção de derivados, porém, deve-se destacar a falta de uma legislação específica federal para determinar o padrão de identidade e qualidade do leite de búfalas no Brasil. Somente o Estado de São Paulo possui legislação para alguns parâmetros de qualidade do leite bubalino (São Paulo, 1994), estabelecendo valores mínimos de 4,5% para o teor de gordura, não fazendo referências para lactose, proteína, sólidos totais (Amaral, Carvalho, Silva, & Brito, 2005).

A Tabela 1 apresenta a composição química do leite de búfalas obtida por diferentes autores. As condições ambientais desempenham um papel importante na determinação da composição do leite, com destaque para a alimentação, estágio de lactação, número de lactações, número de ordenhas, clima, saúde do animal, raça entre outros (González, Dürr & Fontaneli, 2001).

Apesar dos problemas de padronização e legislação, cresce a cada ano o interesse das indústrias e laticínios no uso de leite de búfalas na fabricação de produtos, graças ao seu elevado rendimento e composição química rica em nutrientes.

Tabela 1: Composição do leite bubalino obtido por diversos autores

Componentes do leite (g/ 100g)					
Lactose	Gordura	Proteína	Sólidos Totais	Cinzas	Referência
5,02 ± 0,36	6,84 ± 1,54	4,20 ± 0,49	17,23 ± 1,64	-	Coelho, Machado, Coldebella, Cassoli & Corassin, 2004
3,92±0,003	5,25 ± 0,96	3,87 ± 0,28	14,00 ± 1,19	0,40 ± 0,01	Kanwal, Ahmed & Mirza, 2004
4,74 ± 0,20	7,59 ± 1,31	4,86 ± 0,44	18,44 ± 1,56	0,85 ± 0,05	Han et al., 2007
4,19 ± 0,32	7,04 ± 0,84	4,36 ± 0,40	16,38 ± 1,01	0,72 ± 0,08	Gürler, Kuyucuoğlu, & Pamuk, 2013
4,27 ± 0,26	4,26 ± 0,71	3,05 ± 0,21	12,47 ± 0,29	-	Pignata, Fernandes, Ferrão, Faleiro & Conceição, 2014
4,36 ± 0,40	7,04 ± 0,84	4,19 ± 0,32	16,38 ± 1,01	0,72 ± 0,07	Hashmi & Saleem, 2015

Enriquecimento de lácteos com compostos bioativos

Um elevado número de plantas consumidas pelo homem possuem substâncias fisiologicamente ativas que têm sido objeto de estudo por muitos pesquisadores na prevenção de doenças e promoção da saúde (Hasler, 2002). Os compostos bioativos são substâncias presentes como constituintes naturais dos alimentos que promovem benefícios a saúde além de seu valor nutricional (Biesalski et al., 2009). De acordo com Croteau, Kutchan & Lewis (2000), os compostos bioativos das plantas podem ser divididos em terpenos e terpenoides (cerca de 25.000 tipos), alcaloides (aproximadamente 12.000 tipos) e compostos fenólicos (cerca de 8.000 tipos).

Na saúde humana, os compostos bioativos exercem inúmeras funções, podendo reagir com os radicais livres bloqueando a sua atividade, protegem e reparam danos ao DNA, possuem atividade antiinflamatória e antioxidante, antialérgicos, antimicrobiano, previne cânceres, hipertensão e doenças relacionadas ao dano oxidativo incluindo doenças neurodegenerativas, câncer, doenças cardiovasculares, inflamação, diabetes tipo II e doenças de síndrome metabólica (Daglia, 2012; Hügel & Jackson, 2015).

Os flavonóides previnem acnes, infecções respiratórias, gastrointestinais e urinárias e possuem ação antimicrobiana (Cushnie & Lamb, 2011). As catequinas do chá verde diminuem o colesterol LDL, regulam a pressão sanguínea e podem reduzir o teor de glicose no sangue. O extrato de chá verde adicionado a 1% na dieta de ratos diabéticos reduziu os níveis de açúcares no sangue entre 20 e 35% (Ramarathnam, Osawa, Ochi, & Kawakishi, 1995).

Compostos fenólicos vegetais também têm sido estudados com o objetivo de substituir o uso de antioxidantes sintéticos utilizados na indústria para conservação dos alimentos, podendo aumentar a vida útil do produto entre 15 a 200% (Soares, 2002). O extrato de chá verde, por exemplo, na ordem de 300 ppm tem maior eficácia que o BHT (300 ppm) sobre a estabilidade oxidativa da linguiça (Bozkurt, 2006).

A eficácia dos compostos fenólicos na prevenção da oxidação lipídica ocorre pelo sequestro de radicais livres e quelação de metais (Shahidi, Janitha & Wanasundara, 1992), com atuação na etapa de iniciação e na propagação do processo oxidativo gerando produtos intermediários relativamente estáveis, protegendo assim os tecidos da ação dos radicais livres e da peroxidação lipídica. Ressalta-se que a eficácia da atividade antioxidante depende do nível de inclusão e de sua estabilidade nas condições de processamento dos alimentos (Amarowicz, Pegg, Rahimi-Moghaddam, Barl, & Weil, 2004).

Alguns polifenóis possuem capacidade de melhorar propriedades funcionais do leite e de produtos lácteos, pois interagem com as proteínas do leite, principalmente as proteínas ricas em prolina, como caseínas. Eles podem melhorar a estabilidade microbiológica, capacidade de formar espuma, estabilidade oxidativa e estabilidade ao calor (O'Connell & Fox, 2001). Han et al., (2011) relatam maior capacidade de sequestrar radicais e atividade antioxidante em queijos formulados com adição de compostos fenólicos isolados (catequina, galato de epigallocatequina (EGCG), ácido tânico, ácido homovanílico, hesperitina e flavonas) e em forma de chá verde, extrato de uva e cranberry desidratada, em relação ao queijo sem compostos fenólicos. Entre os queijos, aqueles formulados com extrato de uva, catequinas e flavonas tiveram maior sequestro de radicais livres que os outros queijos.

Entretanto, a adição de compostos bioativos em alimentos pode causar amargor e adstringência e podem afetar negativamente a cor, o sabor e a textura dos alimentos (Verbeke, 2006; Giroux et al., 2013), o que conduz à diminuição do consumo e aceitabilidade do consumidor, limitando o uso de extratos funcionais de plantas em doses mais elevadas (Ares, Barreiro, Deliza, & Gámbaro, 2009). A adição de 2 g/kg de extrato de chá verde em queijos Cheddar eleva a atividade antirradical (27.6 mM Trolox equivalente/g) dos queijos, porém, a avaliação sensorial mostra que esses queijos tiveram elevada adstringência o que afeta negativamente o sabor (Giroux et al., 2013). Neste sentido, os testes de aceitabilidade sensorial são essenciais para o desenvolvimento de um produto funcional.

Manjeriço

O manjeriço é uma planta originária da Ásia, popularizou-se pelo mundo como planta ornamental e hoje é utilizado como condimento em várias preparações (Leão et al., 2013). É espécie pertencente à família *Lamiaceae*, também conhecido popularmente como: manjeriço branco, alfavaca, alfavaca-doce, manjeriço-doce, remédio-de-vaqueiro, segurelha, alfavaca-d'américa, erva-real, basílico-grande, manjeriço-de-folha-larga, alfavaca-cheirosa (Pereira & Moreira, 2011).

Plantas do gênero *Ocimum* incluem 150 espécies com uma grande variedade morfológica e biológica, na composição de óleos essenciais e composição química (Danesi et al., 2008). Seu ciclo pode ser anual ou perene, dependendo do local de cultivo ou de acordo com as características agrônomicas observadas. Possui caule ereto e ramificado, podendo atingir 50-100 cm de altura. Suas folhas possuem coloração

variada, a partir de tons de verde ou roxo, podendo ser lisas ou onduladas. As flores são pequenas e dispostas em ramos eretos, geralmente em grupos de três, podendo assumir tons de branco, lilás ou vermelho. O manjeriço de folhas verdes é o mais conhecido e cultivado e as espécies mais raras e mais aromáticas são as de folhas avermelhadas (Simon & Morales, 1999).

O manjeriço, na medicina tradicional brasileira, é indicado contra bronquite, tosses e dores de garganta (Vieira & Simon, 2000). Na culinária, as folhas de manjeriço frescas ou desidratadas são muito utilizadas, conferindo aroma e sabor aos alimentos. As folhas do manjeriço são ricas em vitamina A e C, vitaminas B (1, 2, 3) e minerais (cálcio, fósforo e ferro), possui taninos, flavonóides, saponinas, cânfora e os óleos essenciais como: timol, estragol, metil-chavicol, linalol, eugenol, cineol e pireno (Pereira & Moreira, 2011).

Os óleos essenciais do manjeriço são extraídos de suas folhas e flores e são destinados à produção de fármacos, perfumes, cosméticos e temperos. Atuam também como inseticidas, nematocidas, fungistáticos e têm propriedades antimicrobianas (Vieira & Simon, 2006). Vieira & Simon (2000) descrevem os principais óleos essenciais encontrados em diferentes cultivares de *Ocimum*: espécies de *O. gratissimum* possuem maiores teores de eugenol (40-66%) e timol (31%) em percentagem relativa do teor de óleo total; *O. campechianum* contém alto teor em 1,8-cineol (62%) e β -cariofileno (78,7%); *O. basilicum* destaca-se pelo elevado teor de 1,8-cineole (22%), linalol (49,7%), metil chavicol (47%) ou cinamato de metila (65,5%); *O. americanum var. americanum* apresenta teor alto de cinamato de metila (>90%).

O manjeriço possui muitos compostos antioxidantes, podendo prevenir ou retardar a oxidação lipídica em alimentos mantendo suas qualidades nutricionais, podendo ser também usado de forma medicinal na prevenção e cura de doenças associadas aos danos oxidativos (Danesi et al., 2008). Dentre as substâncias encontradas com poder antioxidante estão: compostos fenólicos (flavonóides, ácidos fenólicos e taninos), os nitrogenados (alcaloides, aminoácidos, fosfolipídeos, peptídeos, aminas e derivados de clorofila), os pigmentos carotenoides, tocoferóis, ácido ascórbico, ácido fítico e esteróis (Velioglu, Mazza, Gao, & Oomah, 1998).

Carocho et al., (2016) relatam forte atividade antioxidante do manjeriço adicionado aos queijos Serra da Estrela, preservando os ácidos graxos poli-insaturados e proteínas do queijo. Pitaro, Fiorani, & Jorge, (2012) relatam que extratos etanólicos

de manjericão (*Ocimum basilicum* L.) *in natura* e orégano (*Origanum vulgare* L.) seco melhoram a estabilidade oxidativa de óleo de soja.

Em relação à saúde humana, Leão et al. (2013) utilizando cultura de leucócitos humanos expostos a peróxido de hidrogênio e extrato hidroalcoólico de manjericão, relatam que o manjericão é eficaz na proteção das células, sendo um potente antioxidante. Os óleos essenciais do manjericão afetam a viabilidade de células de câncer cervical (HeLa) e células de carcinoma epidermóide de laringe humano (HEp-2) (Kathirvel & Ravi, 2012).

A Tabela 2 apresenta alguns dos compostos fenólicos encontrados no manjericão por diversos autores. A diferença na composição fenólica do manjericão deve-se a muitos fatores como: variedade entre as plantas, local de crescimento, tratamento pós-colheita e condições de armazenamento (Lu, Gao, Chen, Charles, & Yu, 2014).

Tabela 2: Composição fenólica do manjericão relatada por vários autores

Nome	Massa Molecular (u)	Fórmula	Autores
Ácido Cafeico	180,16	C ₉ H ₈ O ₄	Koca & Karaman, (2015); Carochó et al.,(2016)
Ácido Caftárico	312,23	C ₁₃ H ₁₂ O ₉	Lee & Scagel, (2009); Scagel & Lee, (2012)
Ácido chicórico	474,37	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₂	Lee & Scagel, (2009); Kwee & Niemeyer, (2011); Koca & Karaman, (2015)
Ácido clorogênico	354,31	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Fischer et al., 2013
Ácido gálico	170,12	C ₇ H ₆ O ₅	Fischer et al., 2013
Ácido rosmarínico	360,32	C ₁₈ H ₁₆ O ₈	Lee & Scagel, (2009); Carochó et al., (2016)
Ácido ursólico	456,71	C ₃₀ H ₄₈ O ₃	Lu, Gao, Chen, Charles, & Yu, (2014)
Quenferol	286,23	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	Fischer et al., (2013); Carochó et al., (2016)
Quercetina	302,23	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	Fischer et al., 2013

Os compostos fenólicos do manjericão possuem muitas propriedades medicinais. O ácido rosmarínico é um éster de ácido cafeico (AC) e ácido 3,4- diidroxifenil láctico, apresenta atividades biológicas, como atividade antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e antimutagênica, inclusive atuando também no sistema nervoso central (Vieira, 2013). Lee & Scagel (2009) relatam que o ácido chicórico possui potencial antioxidante, anti-inflamatório, antiviral e propriedades imunoestimulantes, além disso o ácido L-chicórico 2 é um dos compostos mais promissores na inibição da enzima HIV-integrase (Ferreira et al, 2010).O ácido cafeico é antiviral, anti cancerígeno, anti-inflamatório e antioxidante (Lin & Yan, 2012).

A quercetina é um flavonóide com alta ação antioxidante, também possui propriedades quelante e estabilizadora do ferro, exerce ação hepatoprotetora e antifibrinogênica, possui ação antitumoral, anticancerígena e contra doenças cardiovasculares (Behling, Sendão, Francescato, Antunes, & Bianchi, 2004). No geral, a habilidade antioxidante dos flavonóides depende do potencial de quelação com metais que é fortemente dependente do arranjo dos grupos hidroxilas e carboxilas ao redor da molécula, da presença de hidrogênio ou doadores de elétrons substituintes capaz de reduzir os radicais livres e por fim, da habilidade do flavonóide em deslocar o elétron não parelhado levando a formação de um radical fenoxilo estável (Gülçin, 2012).

O potencial de uso e estudo do manjericão é bastante vasto. Diante de suas várias características químicas, o manjericão possui grande aptidão de adição na elaboração de produtos com características funcionais.

Referências Bibliográficas

Ahmad, S. (2010) Understanding of the Molecular Changes in Casein Micelles of Buffalo Milk as a Function of Physico-Chemical Conditions: A Comparison with Cow Milk. (PhD Thesis), Agrocampus Ouest- INRA, France

Allen Foegeding, E., Brown, J., Drake, M., & Daubert, C. R. (2003). Sensory and mechanical aspects of cheese texture. *International Dairy Journal*, 13(8), 585–591. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00094-3](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00094-3)

Amaral, F.R.; Carvalho, L.B.; Silva, N. & Brito, J.R.F. (2005). Qualidade do leite de búfalas: composição. *Rev Bras Reprod Anim*, Belo Horizonte, 29(2) 106-110

Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84(4), 551–562. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00278-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00278-4)

Araujo, D.K.G.; Gheller, V. A. (2005) Aspectos morfológicos, celulares e moleculares da imunidade da glândula mamária de búfalas (*Bubalus bubalis*): Revisão de literatura. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, 29(2) 77-83

Ares, G., Barreiro, C., Deliza, R., & Gámbaro, A. (2009). Alternatives to reduce the bitterness, astringency and characteristic flavour of antioxidant extracts. *Food Research International*, 42(7), 871–878. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.006>

Barbosa, J.B. (2014) Ciência e Tecnologia de Queijos Ii (Tal-202) Revisão de Queijos. *Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia*, Sergipe

Barbosa-Cánovas, G.V.; Davidson, P.M.; Dreher, M.; Hartel, R.W.; Juneja, L.R.; Karel, M. ... & Yada, R.Y. (2006) Dairy Science and Technology. Editorial Advisory Board, 2nd. p.577-610

Behling, E. B., Sendão, M. C., Francescato, H. D. C., Antunes, L. M. G., & Bianchi, M. D. L. P. (2004). Flavonóide Quercetina : Aspectos Gerais E. *Alimentos E Nutrição - Brazilian Journal of Food and Nutrition*, 15(3), 285–292

Bernardes, O. (2007). Buffaloes breeding in Brasil. *Italian Journal of Animal Science*. 6:sup2, 162-167, DOI: 10.4081/ijas.2007.s2.162

Biesalski, H.-K., Dragsted, L. O., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Muller, M., Schrenk, D., ... Weber, P. (2009). Bioactive compounds: definition and assessment of activity. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 25(11–12), 1202–1205. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.023>

Bozkurt, H. (2006) Utilization of Natural Antioxidants: Green Tea Extract and ThymbraSpicata Oil in Turkish Dry-Fermented Sausage. *Meat Science*. (73) 442-450

Brady, P. L., & Mayer, S. M. (1985). Correlations of Sensory and Instrumental Measures of Bread Texture. *Cereal Chemistry*, 62(1), 70–20. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb13386.x>

Brasil. Instrução Normativa n°. 30, de 07 de agosto de 2013. http://www.lex.com.br/legis_24684623_INSTRUCAO_NORMATIVA_N_30_DE_7_DE_AGOSTO_DE_2013.aspx Acesso em: 06 de março de 2017

Brasil. Instrução Normativa N° 04, de 01 de Março de 2004. Altera a Portaria n° 352 de 04/09/1997. *Diário Oficial Da União*, Brasília, DF

Brasil. Ministério Da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução – RDC n°12 de 2 de Janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF

Brasil. Portaria n°. 146, de 07 de março de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF

Carocho, M., Barros, L., Barreira, J. C. M., Calhella, R. C., Soković, M., Fernández-Ruiz, V., ... Ferreira, I. C. F. R. (2016). Basil as functional and preserving ingredient in “Serra da Estrela” cheese. *Food Chemistry*, 207, 51–59. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.085>

Coelho, K.O.; Machado, P.F.; Coldebella, A.; Cassoli, L.D. & Corassin, C.H. (2004) Determinação do Perfil Físico-Químico de Amostras de Leite de Búfalas, por Meio de Analisadores Automatizados. *Ciência Animal Brasileira*. 5(3)167-170

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. (2016) Leite e Derivados. Conjuntura Mensal. Brasília-DF. www.conab.gov.br Acesso em: 02 de fevereiro de 2017

Croteau, R.; Kutchan, T.M. & Lewis, N.G. Natural Products (2000) (Secondary Metabolites). In: BUCHANAN, B; Grisse, W; Jones R (Eds.). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Rockville: Courier Companies, Inc., 1250-318

Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014>

Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.007>

Dagostin, J. L.A. (2011) *Avaliação de Atributos Microbiológicos e Físico-Químicos de Queijo Minas Frescal Elaborado a Partir de Leite Carbonatado*. (Dissertação) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil

Danesi, F., Elementi, S., Neri, R., Maranesi, M., D'antuono, L. F., & Bordoni, A. (2008). Effect of cultivar on the protection of cardiomyocytes from oxidative stress by essential oils and aqueous extracts of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21), 9911–9917. <https://doi.org/10.1021/jf8018547>

Dürr, J.W. (2004) Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: uma oportunidade única. In: Durr, J.W., Carvalho, M.P., Santos, M.V. O Compromisso com a Qualidade do Leite. Passo Fundo: Editora UPF, (1) 38-55

El-Salam, M.H.A. & El-Shibiny, S. (2011) A comprehensive review on the composition and properties of buffalo Milk. *Dairy Sci. & Technol.* (91) 663–699

Fernandes, S.A.A.; Mattos, W.R.S.; Matarazzo, S.V.; Tonhati, H.; Sundfeld Gama, M.A. & Lanna, D.P.D. (2007). Activity of $\Delta 9$ -desaturase enzyme in mammary gland of lactating buffaloes. *Ital.J.Anim.Sci.* 6(Suppl. 2), 1060-1062

Fischer, P.; Machado, M.M.; Oliveira, L.F.S.; Rocha, M. B.; Gomes, G.S & Rocha, M.F. (2013). Análise Fitoquímica Preliminar do Manjericão (*Ocimum basilicum* L.), com Ênfase nos Compostos Antioxidantes. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*. UNIPAMPA, São Paulo, Brasil

Foegeding, E. A., & Drake, M. A. (2007). Invited Review: sensory and mechanical properties of cheese texture. *Journal of Dairy Science*, 90(4), 1611–1624. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-703>

Fox, P. F., O'Connor, T. P., Mcsweeney, P. L. H., Guinee, T. P., & O'Brien, N. M. (1996). Cheese: Physical, Biochemical, and Nutritional Aspects. In S. L. T. B. T.-A. in F. and N. Research (Org.) (Vol. Volume 39, p. 163–328). Academic Press. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S1043-4526\(08\)60075-3](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S1043-4526(08)60075-3)

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., & McSweeney, P. L. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*, Springer US, 1 Ed. p. 85

Giroux, H. J., De Grandpré, G., Fustier, P., Champagne, C. P., St-Gelais, D., Lacroix, M., & Britten, M. (2013). Production and characterization of Cheddar-type cheese enriched with green tea extract. *Dairy Science and Technology*, 93(3), 241–254. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0119-4>

Global Cheese Consumption (Kg per capita). International Dairy Federation and Statistics Canada (2016). http://www.dairyinfo.gc.ca/index_e.php?s1=dff-fcil&s2=cons&s3=consglo&s4=tc-ft Acesso em: 06 de março de 2017

González, F.H.D.; Dürr, J.W. & Fontaneli, R. S. (2001) Uso do Leite para Monitorar a Nutrição e o Metabolismo de Vacas Leiteiras. Porto Alegre- RS. P. 6- 13

Gülçin, I. (2012) Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch Toxicol* (86) 345–391

Gürler, Z.; Kuyucuoğlu, Y. & Pamuk, S. (2013) Chemical and microbiological quality of Anatolian Buffalo milk. *African Journal of Microbiology Research*. Vol. 7 (16), p. 1512-1517

Gürler, Z.; Kuyucuoğlu, Y. & Pamuk, S. (2013) Chemical and microbiological quality of Anatolian Buffalo milk. *African Journal of Microbiology Research*. Vol. 7 (16), p. 1512-1517

Han, B.Z.; Meng, Y.; Li, M.; Yang, Y.X.; Ren, F.Z.; Zeng, Q.K. & Nout, M.J.R. (2007) A survey on the microbiological and chemical composition of buffalo milk in China. *Food Control* (18) 742–746

Han, J., Britten, M., St-Gelais, D., Champagne, C. P., Fustier, P., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2011). Polyphenolic compounds as functional ingredients in cheese. *Food Chemistry*, 124(4), 1589–1594. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.021>

Hansen, C. Problemas Típicos de queijos Minas Frescal (2008). <http://cienciadoleite.com.br/noticia/2815/problemas-tipicos-de-queijos-minas-frescal> Acesso em: 02 de fevereiro de 2017

Hashmi, S. & Saleem, Q. (2015) An investigation on microbiological and chemical quality of buffalo milk supplies. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. 4(1) 78-83

Hasler, C. M. (2002). Functional foods: benefits, concerns and challenges-a position paper from the american council on science and health. *The Journal of nutrition*, 132(12), 3772–81. <https://doi.org/10.1002/mus.20330>

Hugel, H. M., & Jackson, N. (2015). Polyphenols for the prevention and treatment of dementia diseases. *Neural Regeneration Research*, 10(11), 1756–1758. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.169609>

Kanwal, R.; Ahmed, T. & Mirza, B. (2004) Comparative Analysis of Quality of milk Collected from Buffalo, Cow, Goat and Sheep of Rawalpindi/Islamabad Region in Pakistan. *Asian Journal of Plant Science* 3(3) 300-305

Kathirvel, P., & Ravi, S. (2012). Chemical composition of the essential oil from basil (*Ocimum basilicum* Linn.) and its in vitro cytotoxicity against HeLa and HEP-2 human cancer cell lines and NIH 3T3 mouse embryonic fibroblasts. *Natural Product Research*, 26(12), 1112–8. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.545357>

Koca, N., & Karaman, Ş. (2015). The effects of plant growth regulators and l-phenylalanine on phenolic compounds of sweet basil. *Food Chemistry*, 166, 515–521. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.065>

Krolow, A.C.R. & Ribeiro, M.E.R. (2006) Obtenção de leite com qualidade e elaboração de derivados. EMBRAPA, doc. 154, Pelotas, RS. ISSN 1806-9193, p. 30-37
Kwee, E. M., & Niemeyer, E. D. (2011). Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 128(4), 1044–1050
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.011>

Law, B.A. & Tamime, A.Y. (2010) Cheese Ripening and Cheese Flavor Technology. In: Law, B.A. & Tamime, A.Y. (Eds.), *Technology of Cheesemaking*, 2nd Edition. Wiley-Blackwell, p. 231-239

Lawrence, R.C.; Creamer, L.K. & Gilles, J. (1987) Texture Development During Cheese Ripening. Symposium: Cheese Ripening Technology. *J Dairy Sci* (70) 1748-1760

Leão, M.F.; Machado, M.M., Leão, M.F.; Oliveira, L.F.; Duarte, J.A.; Souza, R.O & Güz, C.M. (2013) Avaliação do efeito protetor do extrato de Manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) no dano oxidativo em culturas de leucócitos humanos causados pelo Peróxido de Hidrogênio. *Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão*. UNIPAMPA, São Paulo, Brasil

Lee, J., & Scagel, C. F. (2009). Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chemistry*, 115(2), 650–656. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.075>

Lin, Y., & Yan, Y. (2012). Biosynthesis of caffeic acid in *Escherichia coli* using its endogenous hydroxylase complex. *Microbial Cell Factories*, 11, 42. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-11-42>

Lu, Y., Gao, B., Chen, P., Charles, D., & Yu, L. (2014). Characterisation of organic and conventional sweet basil leaves using chromatographic and flow-injection mass spectrometric (FIMS) fingerprints combined with principal component analysis. *Food Chemistry*, 154, 262–268. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.009>

Malin, E.L.; Tunick M. H. (1995) Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese. In: *Advances In Experimental Medicine and Biology*, (367) 161-237

McSweeney P.L.H. (2007). *Ultrafiltration of cheesemilk A2 - McSweeney, P.L.H. BT - Cheese Problems Solved*. (CRC Press LLC, Org.), *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition*. New York: Woodhead Publishing. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1533/9781845693534.163>

Müller, E.E. (2002). Qualidade do Leite, Células Somáticas e Prevenção de Mastite. *Anais do II Sul- Leite: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil*, Maringá, PR, Brasil. p. 206-217

Nyberg, J. (2016). Microorganisms influence on quality and flavor of cheese Mikroorganismers betydelse för ostens kvalitet och smak. *Swedish University of Agricultural Science*, (437), 1–23

O’Connell, J. E., & Fox, P. F. (2001). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *International Dairy Journal*, 11(3), 103–120. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00033-4)

OECD-FAO Agricultural Outlook 2015-2024 (2015) <http://www.fao.org/3/a-i4738e.pdf>
Acesso em: 06 de março de 2017

Paula, C.J.; Carvalho, A.F. & Furtado, M.M. (2009). Princípios básicos de fabricação de queijos: Do histórico à salga. *Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”*, 64, 19–25

Pereira, R.C.A. & Moreira, A.L.M. (2011) Manjericão: Cultivo e Utilização. EMBRAPA: Embrapa Agroindústria Tropical, Doc 136, Fortaleza, CE

Perspectives agricoles de l’OCDE et de La FAO 2016-2025 (2016), Éditions OCDE, Paris. <http://www.fao.org/3/a-i5778f.pdf> Acesso em: 03 de março de 2017

Pignata, M.C.; Fernandes, S.A.A.; Ferrão, S.P.B.; Faleiro, A.S. & Conceição, D.G. (2014) Estudo Comparativo da Composição Química, Ácidos Graxos e Colesterol de Leites de Búfala e Vaca *Revista Caatinga*, Mossoró, 27(4) 226 – 233

Pitaro, S. P., Fiorani, L. V., & Jorge, N. (2012). Potencial antioxidante dos extratos de manjericão (*Ocimum basilicum Lamiaceae*) e orégano (*Origanum vulgare Lamiaceae*) em óleo de soja. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 14(4), 686–691. <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000400017>

Pollard, A.; Sherkat, F.; Seuret, M.G. & Halmos, A.L. (2003) Textural Changes of Natural Cheddar Cheese During the Maturation Process. *Journal of Food Science*, 68(6) 2011-2016

Ramarathnam, N., Osawa, T., Ochi, H., & Kawakishi, S. (1995). The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trends in Food Science & Technology*, 6(3), 75–82. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)88967-0](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)88967-0)

Sant’ana, A. M. S.; Bezerril, F. F.; Madruga, M. S.; Batista, A. S. M.; Magnani, M; Souza, L; Queiroga, R.C.R.E. (2013) Nutritional and Sensory Characteristics of Minas Fresh Cheese Made with Goat Milk, Cow Milk, or a Mixture of Both. *Journal of Dairy*

Science 96(12)

São Paulo (Estado). Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Resolução SAA nº 24 de 01 de agosto. 1994: Dispõe sobre as normas técnicas de produção e classificação dos produtos de origem animal e as relativas às atividades de fiscalização e inspeção dos produtos de origem animal. Cap.7, Artigo 134. www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/resolucao-saa-24-de-01-08-1994,33.html. Acesso em 20 dez. 2016

Scagel, C. F., & Lee, J. (2012). Phenolic composition of basil plants is differentially altered by plant nutrient status and inoculation with mycorrhizal fungi. *HortScience*, 47(5), 660–671

Shahidi, F.; Janitha, P.K. & Wanasundara, P.D. (1992) Phenolic antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32:1, 67-103

Shojaei, F., & Sani, A. L. I. M. (2015). Role of enzyme in cheese making. *Ludus Vitalis*, XI, 112–115

Silva, F.T. (2005). Queijo Minas Frescal. EMBRAPA. Coleção Agroindústria Familiar: Agregando valor à pequena produção. Brasília, DF, p.11

Simon, J., & Morales, M. (1999). Basil: a source of aroma compounds and a popular culinary and ornamental herb. *Perspectives on New ...*, (16), 499–505. Retrieved from <https://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1999/pdf/v4-499.pdf>

Soares, S.E. (2002) Ácidos Fenólicos como Antioxidantes. *Rev. Nutr., Campinas*, 15(1):71-81

Szczesniak, A. S. (2002). Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, 13(4), 215–225. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0950-3293\(01\)00039-8](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0950-3293(01)00039-8)

Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113–4117. <https://doi.org/10.1021/jf9801973>

Verruma-Bernardi, M. R.; Barros, C.S.; Tonhati, H.; Guzmán-Silva, M.A.; Araújo, K.G.L. & Boaventura, G.T. (2009). Efeito do Consumo do Queijo Mozzarella de Leite de Búfala no Perfil Nutricional e Sérico de Ratos. *Alim. Nutri. Araraquara*. 20(3) 457-462

Vieira, C.G. (2013). Avaliação Anticonvulsivante do Ácido Rosmarínico e Ácido Caféico em Camundongos. *Salão UFRGS 2013: SIC - XXV Salão de Iniciação Científica da UFRGS*, Porto Alegre, RS, Brasil

Vieira, L.C. & Lourenço Júnior, J.B. (2006). Tecnologia de Fabricação do Queijo Coalho com Leite de Búfala. *Comunidade técnico 161 - EMBRAPA*, Belém, PA

Vieira, R. F. & Simon, J. E. (2000). Chemical characterization of basil (*Ocimum* sp.) found in the markets and use in traditional medicine in Brazil. *Economic Botany*, 54(2), 207–216. <https://doi.org/10.1007/BF02907824>

Vieira, R. F., & Simon, J. E. (2006). Chemical characterization of basil (*Ocimum* sp.) based on volatile oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 21(2), 214–221. <https://doi.org/10.1002/ffj.1513>

Visotto, R. G.; Oliveira, M.A.; Prado, S. P. T. & Bergamini, A. M. M. (2011). Queijo Minas Frescal: Perfil Higiênico-Sanitário e Avaliação da Rotulagem. *Rev. Inst. Adolfo Lutz (Impr.) [Online]*. 70(1) 8-15

Walstra, P. (2006). *Dairy Science and Technology*. 2nd. Ed. *Boca Raton: CRC*

Yildirim, S. & Erdem, Y.K. (2015) A Tool for Explaining the Differences on Renneting Characteristics of Milks from Different Origins: The Surface Hydrophobicity Approach. *Dairy Sci. & Technol.* (95) 719–731

Zoccal, R. Queijos: Produção e Importação. Balde Branco (2016). <http://www.baldebranco.com.br/queijos-producao-e-importacao/> Acesso em: 06 de março de 2017

II – OBJETIVOS GERAIS

Objetivou-se avaliar a influência da adição de manjeriço em doses crescentes aos queijos tipo frescais elaborados com leite de búfala orgânico com até 21 dias de armazenamento nas características funcionais (teor de compostos fenólicos totais, capacidade antioxidante e retenção dos compostos bioativos), tecnológicas (alterações físico-químicas, texturais), microbiológicas (atividade antimicrobiana) e avaliação dos atributos sensoriais.

III. Influência da adição de manjeriço nas características funcionais de queijos tipo frescais elaborados com leite de búfala orgânico¹

1 – Elaborado segundo normas da revista LWT – Food Science and Technology

RESUMO

A inclusão do manjeriço no desenvolvimento de queijos tipo frescais fabricados com leite orgânico de búfalas foi estudada. Os tratamentos foram: 0 (controle), 0,25, 5,0 e 7,5 g/kg MS de manjeriço. Os queijos foram armazenados sob refrigeração de 4 ± 1 °C por até 21 dias. Analisou-se o teor de polifenóis totais e atividade antioxidante, coeficiente de retenção dos compostos fenólicos, atividade microbiana e características sensoriais. O manjeriço apresentou teor de polifenóis totais de $100,65\pm 1,41$ mg equivalente ácido gálico/grama (mg EAG/g), sendo identificados: ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido rosmarínico e quercetina e apresentou atividade antioxidante satisfatória. O teor de polifenóis totais dos queijos variou de 0,395 (controle) a 0,617 mg EAG/g (5,0 g/kg de manjeriço) com 1 dia de armazenamento, com redução significativa dos polifenóis nos queijos armazenados por 21 dias. O coeficiente de retenção dos polifenóis nos queijos variaram de 0,52 a 0,77. Queijos elaborados com manjeriço apresentaram maior atividade antioxidante. Houve menor crescimento de coliformes totais e *Staphylococcus aureus* nos queijos com 21 dias de armazenamento elaborados com manjeriço em relação ao controle. As análises sensoriais mostraram preferência aos queijos adicionados de 2,5 e 5,0 g/kg de manjeriço. O manjeriço melhora as características funcionais e microbiológicas de queijos tipo frescais e possui boa aceitabilidade do consumidor.

Palavras-chave: antioxidantes, análise sensorial, atividade antimicrobiana, coeficiente de retenção, polifenóis

Keywords: antimicrobial activity, antioxidants, polyphenols, retention coefficient, sensory analysis

1. INTRODUÇÃO

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) é uma planta rica em polifenóis, relatada por possuir propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antifúngicas (Carocho et al., 2016). Os galhos possuem principalmente fibras, óleos essenciais e minerais como nitrogênio, cálcio, potássio e magnésio. As folhas do manjeriço possuem quantidade expressiva de caroteno, vitamina B (1, 2, 3), vitamina C, minerais (cálcio, fósforo e ferro), polifenóis e óleos essenciais (Dumbravă & Moldovan, 2012).

Alimentos funcionais são aqueles que além de seu valor nutritivo, demonstram ação benéfica ao organismo em relação à saúde e bem-estar ou para redução de risco de doenças (Roberfroid, 2002). Um alimento pode se tornar funcional aumentando a concentração, adicionando ou melhorando a biodisponibilidade de um ingrediente bioativo, dentre eles: probióticos, fibras, fitoquímicos, vitaminas, minerais, ervas, ômega-3, peptídeos-proteínas entre outros (Arvanitoyannis & Houwelingen-Koukaliaroglou, 2005; Roberfroid, 2002).

Os polifenóis presentes em plantas possuem propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, protegendo o organismo contra cânceres e doenças cardiovasculares (Harbourne, Jacquier, & O’Riordan, 2011). Os polifenóis são muito utilizados na indústria e por pesquisadores a fim de retardar a degradação oxidativa dos lipídeos nos alimentos (Javanmardi, Stushnoff, Locke, & Vivanco, 2003). Neste sentido, vários pesquisadores têm utilizado o queijo como veículo de inclusão de plantas, extratos condimentares e polifenóis puros (Faion et al., 2015; Hala, Ebtisam, Sanaa, Gad, & Marwa, 2010; Librán et al., 2013; Marinho, Bersot, Nogueira, Colman, & Schnitzler, 2015; Silva, Matumoto-Pintro, Bazinet, Couillard, & Britten, 2015).

Devido à grande quantidade de ácidos graxos poli-insaturados no leite bubalino (El-Salam & El-Shibiny, 2011), o queijo tipo frescal possui maior susceptibilidade à oxidação, assim, a inclusão do manjeriço aos queijos tipo frescais pode contribuir para a sua conservação e trazer benefícios ao consumidor. Desta forma, objetivou-se: (I) determinar a composição fenólica e atividade antioxidante do manjeriço; (II) avaliar a concentração de polifenóis totais e atividade antioxidante de queijos formulados com doses crescentes de manjeriço; (III) determinar o coeficiente de retenção dos compostos fenólicos do manjeriço nos queijos; (IV) testar a atividade antimicrobiana

do manjericão e (V) avaliar as características sensoriais de queijos tipo frescais elaborados com diferentes teores de manjericão.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Reagentes

Cloreto de cálcio, Folin-Ciocalteu, carbonato de sódio, ácido gálico, radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), persulfato de potássio, Radical Livre 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH), tampão fosfato salino (PBS) foram procedentes da SigmaAldrich (Spruce Street, St Louis, USA). A protease foi proveniente de HA-LA (Hansen A/S, Dinamarca). Os outros reagentes utilizados foram de grau analítico.

2.2 Leite

O leite de búfalas Murrah criadas em sistema orgânico de produção e ordenha mecanizada foi obtido no Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR, Lapa, PR). Foram utilizados 15 litros ao total, coletados em dois dias sendo pasteurizado a 65 °C por 30 minutos e refrigerado a 4 ± 1 °C.

2.3 Manjericão

O manjericão (*Ocimum basilicum* L.) foi adquirido de um produtor local em Maringá/PR (*Latitude*: 23° 25' 38" Sul, *Longitude*: 51° 56' 15" Oeste). Galhos e folhas foram higienizados com água e hipoclorito de sódio (200 ppm, 5 min.) e colocados em estufa a 55 °C por 24 horas. Os galhos e folhas do manjericão foram moídos em processador de alimentos e peneirados a 60 mesh. Depois, foi acondicionado em potes ao abrigo da luz sob refrigeração. A composição química do manjericão foi determinada através de análises de proteína bruta, extrato etéreo, fibra alimentar e matéria mineral segundo Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1992) e calculadas com base na matéria seca.

2.4 Determinações dos compostos fenólicos em HPLC

A extração dos compostos fenólicos do manjericão foi realizada com metanol 60% em proporção 1:10 (m/v), em agitador tipo vortex por um minuto, seguida de descanso de 10 minutos, quatro vezes. Depois, o extrato foi centrifugado (3.000 rpm, 10 min., 22 °C) e aplicado em cartucho de extração de fase sólida (Oasis HLB, Waters Corporation,

Milford, EUA), com eluição utilizando metanol 80%, resultando na concentração final 7,77 mg/mL. Os compostos fenólicos foram identificados e quantificados com uso de cromatógrafo líquido de alta eficiência (Alliance Waters e2695, Milford, EUA), equipado com módulo de separação, bomba quaternária e detector de foto diodo. A separação foi obtida com uma coluna C18 de fase reversa (ACE3 C18-AE, 150 mm × 4.6 mm × 5µm) a 40 °C. A fase móvel foi constituída por água em ácido fórmico 0,1% (solvente A) e acetonitrila em ácido fórmico 0,1% (solvente B) em gradiente de acordo com Lu et al. (2014), em fluxo 0,8 mL/min. A detecção dos compostos foi realizada entre 280 e 330 nm e a identificação foi através de comparação ao espectro UV de padrões comerciais. A quantificação foi realizada com uso dos padrões de ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido gálico, ácido rosmarínico e quercetina (Sigma Aldrich, Spruce Street, St Louis, EUA). Compostos desconhecidos que apresentaram espectro UV semelhante ao espectro UV da quercetina foram quantificados como equivalente quercetina. Picos desconhecidos com espectro UV similar ao ácido gálico foram quantificados como equivalente ácido gálico.

2.5 Fabricação dos queijos tipo frescais

Ao todo, foram fabricados 56 queijos. Para a análise do teor de polifenóis totais (TPT) e atividade antioxidante (AA), utilizou-se 24 queijos, 6 para cada tratamento, analisados com um e 21 dias de armazenamento refrigerado. A análise microbiológica foi realizada em 8 queijos, 2 de cada tratamento, fabricados e armazenados por 21 dias a 4 ± 1 °C. A análise sensorial foi realizada em 8 queijos para os tratamentos: 0,25, 0,5 e 7,5 g/kg de manjeriço.

O processo de fabricação de cada queijo controle foi realizado utilizando 250 mL de leite aquecido a 37 °C com adição de solução de cloreto de cálcio (0,1 mL) e enzima protease (HA-LA) (2,5 mg). Fez-se a mexedura, colocou-se em estufa a 35 °C por 45 minutos. Realizou-se o corte da massa com descanso de 15 minutos e posteriormente a enformagem. Depois, os queijos foram mantidos em repouso por uma hora a 4 ± 1 °C, fez-se a viragem e passados 30 minutos, os queijos foram embalados e permaneceram sob refrigeração a 4 ± 1 °C por até 21 dias. Para fabricação dos queijos dos outros três tratamentos, o manjeriço foi misturado ao leite após a pasteurização e repetiu-se o mesmo procedimento descrito para o controle.

2.6 Determinações de compostos bioativos

2.6.1 Preparação dos extratos

Para a preparação dos extratos, pesou-se um grama de manjericão, um grama de cada queijo e um grama do soro em tubos tipo falcon envoltos em papel alumínio, adicionou-se álcool metílico 100% nas proporções de 1:20 (m/v) para o manjericão e 1:10 (m/v) para os queijos e soro, em seguida, os tubos foram colocados em agitador de tubos por 10 minutos e foram submetidos a centrifugação (3000 rpm) por 15 minutos. O sobrenadante foi utilizado para as análises.

2.6.2 Teor de polifenóis totais (TPT)

O TPT foi mensurado no manjericão, nos queijos com 1 e 21 dias de armazenamento e no soro da fabricação dos queijos através do método de Folin-Ciocalteu (Singleton & Rossi, 1965). Alíquotas de 150 µL de extrato foram misturadas com 125 µL do reagente Folin-Ciocalteu (1:1 água deionizada) e 2250 mL carbonato de sódio (28 g/L). Amostras permaneceram ao abrigo de luz por 30 min. e realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 725 nm. Ácido gálico foi utilizado para a determinação da curva padrão, os resultados das absorbâncias foram expressos em miligrama de equivalente ácido gálico (EAG) por grama de amostra.

2.6.3 Teor de flavonóides totais

No manjericão, determinou-se o teor de flavonóides totais segundo Woisky & Salatino (1998) com modificações de Sánchez et al. (2010). Alíquotas de 300 µL do extrato foram adicionados a 150 µL de cloreto de alumínio (AlCl₃) e 2550 µL de álcool metílico 80% seguidos de repouso por 30 min. ao abrigo de luz. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 425 nm. Utilizou-se quercetina para determinação da curva padrão e os resultados foram expressos em miligrama de quercetina por grama de amostra (mg EQ/g).

2.5.4 Atividade antioxidante (AA)

A determinação da AA foi feita em amostras de queijos com 1 e 21 dias de armazenamento a partir dos métodos: sequestro do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS) descrito por Re et al., (1999), sequestro do Radical Livre 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) (Li, Hydamaka, Lowry, &

Beta, 2009) expressos em porcentagem e poder de redução do ferro conforme (Zhu, Hackman, Ensunsa, Holt, & Keen, 2002) expresso em mg EQ/g.

O sequestro do radical livre ABTS foi determinado com 5 mL de radical ABTS⁺ (7mM) com 176 mL de persulfato de potássio (140 mM) e após 16 horas ao abrigo de luz, a solução ABTS foi diluída em álcool etílico até atingir a absorvância de 0.70 ± 0.02 . A leitura foi mensurada em espectrofotômetro a 734 nm. Alíquotas de 40 µL de extratos de manjeriço e queijo foram adicionadas a 1.96 µL de solução ABTS ao abrigo de luz e as absorvâncias foram lidas após 6 minutos.

No método DPPH, alíquotas de 150 µL de extrato foram misturadas com 2,85 mL do radical DPPH (0,06 mM), homogeneizadas em vórtex e mantidas ao abrigo de luz durante 30 minutos. As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 515 nm. Os resultados das leituras de ABTS e DPPH foram calculados pela equação 1:

$$\% \text{ atividade ABTS/ DPPH} = (1 - (A_{\text{amostra } t=0} / A_{\text{amostras } t}) \times 100$$

Onde:

A_{amostra} : Absorvância da amostra no tempo zero;

A_{amostras} : Absorvância das amostras durante os tempos.

Para a análise do poder de redução do ferro, amostras foram misturadas com álcool metílico e alíquotas de 250 µL do extrato foram misturados com 1,25 mL de Tampão fosfato (pH 7) e 1,25 mL de Ferricianeto de Potássio 1% ($K_3[Fe(CN)_6]$) e incubados a 50°C por 20 minutos. Então, após resfriamento dos extratos, seguiu-se à adição de 1,25 mL de ácido tricloroacético 10% e a mistura foi centrifugada a 3000 rpm por 10 minutos. Adicionou-se 2,5 mL do sobrenadante com 0,5 mL de Cloreto de Ferro III ($FeCl_3$ III) e a absorvância foi mensurada em espectrofotômetro a 700 nm. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico equivalente (GAE) por grama de manjeriço/queijo. A curva padrão de ácido gálico variou de 0 a 300 mg/L.

2.5.5 Coeficiente de retenção de polifenóis no queijo

A quantidade de compostos fenólicos recuperados no queijo foi mensurada subtraindo a quantidade de compostos fenólicos totais no soro do total de compostos fenólicos adicionados inicialmente ao leite conforme equação 1:

$$RC = \frac{(\text{Teor de compostos fenólicos inicial no leite}) - (\text{Teor de compostos fenólicos no soro de leite})}{\text{Teor de compostos fenólicos inicial no leite}}$$

Teor de compostos fenólicos inicial no leite

O coeficiente de retenção foi expresso na escala de 0-1. Um alto coeficiente de retenção (próximo a 1) reflete maior compostos fenólicos retidos na coalhada (Han et al., 2011).

2.7 Atividade antimicrobiana do manjericão

A concentração mínima inibitória (CMI) do manjericão foi determinada através do teste de difusão por poço conforme a metodologia CLSI M7-09 (2012) utilizando microplacas de 96 poços com diluições em série para as cepas dos microrganismos: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e *Escherichia coli* nas concentrações 10^4 CFU/mL. O extrato do manjericão foi diluído com água destilada estéril contendo 10% de dimetilsulfóxido (DMSO) para a proporção final de 200 mg/ mL. A placa de 96 poços foi incubada a 45 °C por 24 horas e depois, a CMI foi dada através da inibição de crescimento microbiano dado pela observação visual da turvação do poço. Os testes foram realizados em triplicada para cada espécie de microrganismo.

O método de difusão em disco de ágar foi realizado conforme a metodologia de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (CLSI, 2015). Neste procedimento, as placas de ágar foram inoculadas com um inóculo padronizado de *S. aureus*, *Salmonella* sp. e *Escherichia coli*. Em seguida, colocou-se discos de papel de filtro (6 mm de diâmetro), contendo o manjericão, na superfície de ágar. As placas de Petri foram incubadas a 35 °C por 24 horas. Geralmente, o agente antimicrobiano difunde para dentro do ágar e inibe a germinação e o crescimento do microrganismo de teste. Posteriormente, os diâmetros das zonas de crescimento de inibição são medidos.

2.7 Análises microbiológicas

As contagens de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e de coliformes totais foram realizadas nos queijos após 21 dias de armazenamento, utilizando-se as técnicas de contagem em placas Petrifilm, de acordo com o material e procedimentos determinados pelo fabricante (3M Company, St. Paul, MN, EUA).

2.8 Análises Sensoriais

A análise sensorial foi realizada nos queijos com 2,5, 5,0 e 7,5 g/kg de manjericão após 24 horas de fabricação, armazenados sob refrigeração. A salga dos queijos foi

realizada no dia da análise sensorial através de salmoura com concentração de 15% de sal (NaCl), com imersão dos queijos por 10 min. A análise sensorial dos queijos foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Maringá (CAAE: 62124616.6.0000.014). As amostras de formato de cunha (2,28 cm de aresta) foram servidas codificadas com números aleatórios de três dígitos.

A aceitabilidade dos queijos foi avaliada de acordo com a metodologia descrita por Meilgaard et al. (1988), por 101 consumidores não treinados. Os atributos avaliados foram: sabor, cor, textura, aroma e aparência global empregando-se teste de aceitação com utilização de escala hedônica de nove pontos, semi-estruturada, que variou de 1 ponto = desgostei extremamente e 9 pontos = gostei extremamente.

2.9 Análises Estatísticas

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância usando o modelo linear geral (GLM) com SPSS (v.15.0) (IBM SPSS Statistics, SPSS Inc., Chicago, USA) do Windows. Médias e desvio padrão foram calculados para cada variável. As concentrações de manjericão (0, 2,5, 5,0 e 7,5 g/kg) e o tempo de estocagem (1 e 21 dias) foram considerados fatores fixos no modelo fatorial para as variáveis: teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante havendo três repetições por tratamento para cada análise. Quando as diferenças foram estatisticamente significativas, teste de Tukey foi utilizado com nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterizações do manjericão

O manjericão apresentou na sua composição teor de proteína bruta, extrato etéreo e fibra bruta de $8,56 \pm 0,12$, $3,24 \pm 0,73$ e $11,79 \pm 0,22$ g/100 g MS respectivamente. O teor de matéria mineral ($14,25 \pm 0,08$ g/100 g MS) foi próximo ao *Ocimum gratissimum* ($13,67 \pm 0,13$ g/100 g MS) observado por Khalid (2006). A concentração de proteína bruta foi abaixo dos valores $20,18 \pm 0,09$ g/100 g MS e $20,15 \pm 0,01$ g/100 g MS relatado nas folhas de *O. gratissimum* e *O. basilicum* respectivamente (Ifesan, Ijarotimi & Osundahunsi, 2006). Essas diferenças no teor protéico provavelmente deve-se a inclusão de galhos do manjericão além de folhas, com aumento no teor de fibras e redução nos teores de PB, caracterizando-se em um efeito de diluição.

O cromatograma do extrato de manjeriço é apresentado na Figura 1. Do total de compostos detectados, quatro foram identificados através de padrões comerciais: ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido rosmarínico e quercetina (Tabela 1).

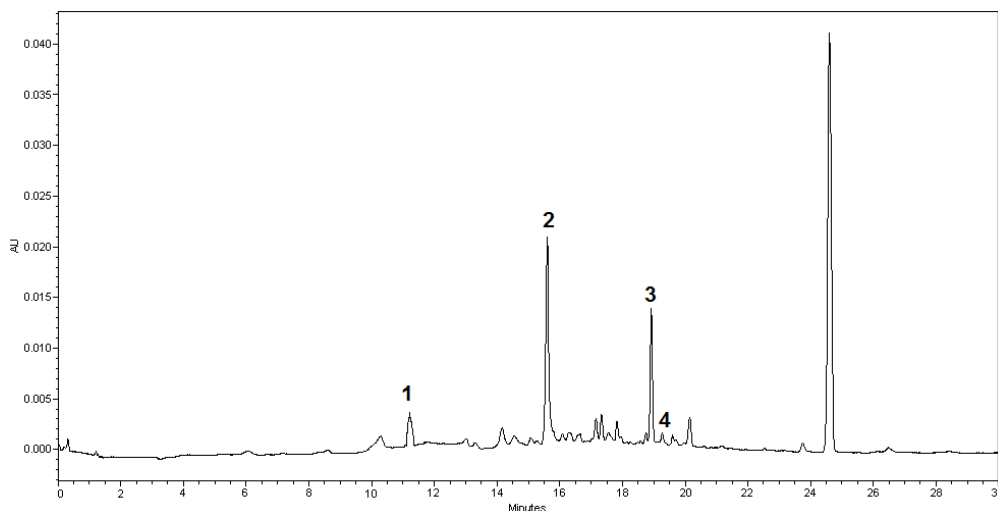


Figura 1: Cromatograma de extrato de manjeriço a 275 nm. 1= ácido cafeico; 2=ácido ferúlico; 3= ácido rosmarínico; 4= quercetina.

Os compostos fenólicos são compostos secundários envolvidos em várias respostas das plantas a estímulos bióticos e abióticos, a quantidade produzida pode variar conforme: nutrição da planta, maturidade, área da planta analisada, temperatura e a colonização das plantas por fungos (Scagel & Lee, 2012). A concentração de ácido cafeico ($2,38 \pm 0,80$ mg/100g MS) foi inferior a 14 mg/100g MS do cultivar Purple Ruffles (McCance, Flanigan, Quick, & Niemeyer, 2016). Os valores de ácido ferúlico ($71,82 \pm 9,91$ mg/100g MS) foram menores que 510 mg/100g MS do cultivar Sweet (Ghasemzadeh et al., 2016). Igualmente, houve menor concentração de ácido rosmarínico ($117,82 \pm 27,36$ mg/100g MS) que 683 mg/100g MS para manjeriço green Iranian e 499 mg/100g MS para o manjeriço Genovese (Luna et al., 2015). Além das diferenças entre os cultivares que deve ser considerada é provável que a planta inteira utilizada (folhas e galhos) tenha influenciado nestes valores.

Tabela 1: Fragmentação dos compostos fenólicos do manjeriço estudado por cromatografia líquida de alta performance (HPLC)

Nº do pico	Tempo de retenção (min)	Comprimento de onda (nm)	Composto	Concentração (mg/100g MS)
1	7,2	325	Ác cafeico	2,38±0,80
2	11,4	325	Ác ferúlico	71,82±9,91
3	15,6	330	Ác rosmarínico	117,82±27,36
4	19,2	365	Quercetina	0,640±0,380
Picos desconhecidos EAG				2019,073±44,86
Picos desconhecidos EQ				906,80±247,81

*média±desvio padrão em triplicata

O teor de polifenóis totais (TPT) no manjeriço estudado pelo método Folin-Ciocalteu foi 100,65±1,41 mg EAG/g MS, destes, 74,06±4,96 mg EQ/g MS são flavonóides totais. O TPT encontrado, estão acima de 17,58 mg EAG/g MS encontrados nas folhas do manjeriço no cultivar Spice (híbrido *Ocimum basilicum e Ocimum americanum*) (Kwee & Niemeyer, 2011) e acima de 26,9 mg EAG/g MS do cultivar Purple Delight (Flanigan & Niemeyer, 2014). Possivelmente, as presenças de ligninas e taninos nos galhos do manjeriço podem ter aumentado o conteúdo de polifenóis totais do manjeriço neste estudo.

Os polifenóis atuam como agentes antioxidantes através da transferência de elétrons, transferência de átomos de hidrogênio e quelação de metais catalizadores. Sua atividade antioxidante depende da sua estrutura química como o números e posições dos grupos hidroxila em relação ao grupo funcional carboxila (Balasundram, Sundram, & Samman, 2006; Karaosmanuglu & Kilmartin, 2015). A capacidade antioxidante do manjeriço em reduzir o Fe(III) através da doação de elétrons foi 69,9 mg EAG/g. Já a capacidade antioxidante do manjeriço através da transferência de hidrogênio mensurada pelo sequestro dos radicais livres DPPH e ABTS revela maior sequestro do radical livre ABTS (76,3%) em relação ao sequestro do radical DPPH (44,9%). O método do sequestro do radical ABTS mede a atividade antioxidante de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica enquanto o método do sequestro do radical DPPH mede a atividade antioxidante apenas em meio orgânico limitando assim a mensuração dos antioxidantes hidrofílicos (Gülçin, 2010; Karadag, Ozcelik, & Saner, 2009).

A atividade antioxidante (AA) do manjeriço pode ser atribuída, em parte, com as características dos compostos fenólicos identificados. Vários autores afirmam que o ácido rosmarínico (Kittipongpittaya, Panya, Phonsatta, & Decker, 2016), ácido cafeico

(Lin & Yan, 2012), ácido ferúlico (Takahashi, Kashimura, Koiso, Kuda, & Kimura, 2013) e a quercetina (Behling, Sendão, Francescato, Antunes, & Bianchi, 2004) apresentam alta AA.

3.2 Teor de compostos bioativos e atividade antioxidante dos queijos

O principal objetivo de se adicionar o manjeriço aos queijos é aumentar a concentração de compostos fenólicos. O TPT nos queijos e a AA são descritos na tabela 2. O queijo controle apresentou TPT de 0,395 mg EAG/g. Os compostos fenólicos quantificados possivelmente derivam do leite utilizado, sendo provenientes da alimentação do animal, do catabolismo de aminoácidos ou atividade microbiana no rúmen (O'Connell & Fox, 2001). Os queijos com adição de manjeriço apresentaram aumento do TPT paralelo ao aumento da concentração do manjeriço adicionado ao queijo, sendo a $0,617 \pm 0,019$ mg EAG/g nos queijos com 5,0 g/kg de manjeriço.

Em relação à AA, o queijo controle apresentou menor capacidade de transferência de átomos de hidrogênio e de elétrons em relação aos demais. Esta AA provém de componentes do leite como tocoferol, retinol e vitamina C (Balestrieri et al., 2002; Zulueta et al., 2009). A AA dos queijos com adição de manjeriço diferiu entre os métodos utilizados. No método do sequestro do radical livre DPPH, queijos com adição de manjeriço obtiveram maior sequestro quando comparados ao controle, porém sem diferença entre as concentrações adicionadas. No método ABTS, queijos com 5,0 e 7,5 g/kg apresentaram maior sequestro do radical ABTS que os demais. O poder de redução do ferro foi maior para queijos elaborados com 7,5 g/kg de manjeriço no primeiro dia de armazenamento.

Aos 21 dias de armazenamento, todos os queijos apresentaram redução do teor de TPT e AA. A redução da AA foi devido, provavelmente, à instabilidade dos polifenóis e outras substâncias com poder antioxidante, que passam por numerosas reações enzimáticas e químicas durante tempo de armazenamento (Hala et al., 2010).

Tabela 2: Polifenóis totais e atividade antioxidante de queijos de búfala tipo frescais elaborados com concentrações crescentes de manjeriço

		Tratamentos			
Controle	2,5 g/kg	5,0 g/kg	7,5 g/kg		Valor P
Polifenóis totais (mg EAG/g)					
1 dia	0,395±0,01 ^{Ab}	0,587±0,00 ^{Aa}	0,617±0,02 ^{Aa}	0,615±0,02 ^{Aa}	<0,01
21 dias	0,23±0,00 ^{Bb}	0,328±0,02 ^{Ba}	0,374±0,02 ^{Ba}	0,373±0,02 ^{Ba}	<0,01
Valor P	<0,01	<0,01	<0,01		<0,01
Capacidade de sequestro do DPPH (%)					
1 dia	13,08±0,47 ^{Ab}	26,07±1,05 ^{Aa}	27,97±2,81 ^{Aa}	28,88±1,15 ^{Aa}	<0,01
21 dias	4,86±0,31 ^{Bb}	19,24±0,53 ^{Ba}	20,42±1,64 ^{Ba}	21,20±0,44 ^{Ba}	<0,01
Valor P	<0,01	0,001	0,016		<0,01
Capacidade de sequestro do ABTS (%)					
1 dia	12,03±0,11 ^{Ac}	37,46±4,36 ^{Ab}	49,36±0,60 ^{Aa}	53,03±0,68 ^{Aa}	<0,01
21 dias	8,56±1,96 ^{Bb}	11,23±1,52 ^{Bab}	14,50±2,88 ^{Ba}	15,80±1,18 ^{Ba}	0,008
Valor P	0,038	0,001	<0,01		<0,01
Poder redutor do ferro (mg EAG/g)					
1 dia	0,730±0,01 ^{Ad}	0,878±0,01 ^{Ac}	1,009±0,00 ^{Ab}	1,13±0,00 ^{Aa}	<0,01
21 dias	0,351±0,01 ^{Bb}	0,410±0,04 ^{Ba}	0,396±0,01 ^{Bab}	0,428±0,00 ^{Ba}	0,013
Valor P	<0,01	<0,01	<0,01		<0,01

Médias com diferentes letras maiúsculas na mesma coluna possuem diferença significativa (P<0.05). Médias com diferentes letras minúsculas na mesma linha possuem diferença significativa (P<0.05). Os resultados estão expressos em média ± desvio padrão, em triplicata.

3.4 Coeficiente de retenção dos polifenóis nos queijos

A retenção dos compostos fenólicos nos queijos é atribuída às interações existentes entre os polifenóis e as proteínas do leite, principalmente caseínas (Han et al., 2011). As interações podem ser induzidas por pontes de hidrogênio, hidrofóbicas, ligações iônicas e covalentes entre as moléculas de polifenóis e proteínas (Fadavi & Beglaryan, 2013; Han et al., 2011). Um alto coeficiente de retenção, próximo a um, é desejável, indicando pouca perda dos compostos fenólicos. O coeficiente de retenção de queijos formulados com 2,5, 5,0 e 7,5 g/kg de adição de manjeriço foram respectivamente: 0,52, 0,70 e 0,77, demonstrando que a dose 7,5 g/kg de manjeriço adicionada aos queijos gerou maior retenção de compostos fenólicos.

3.5 Avaliação do poder antimicrobiano do manjeriço

A atividade antimicrobiana do manjeriço é relatado por vários autores (Favorito et al., 2011; Hussain, Anwar, Hussain Sherazi, & Przybylski, 2008; Lee & Scagel, 2009). O ácido ferúlico, presente no manjeriço, mostra grande efeito inibidor para *Listeria monocytogene*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* na concentração de 1500 ppm

(Takahashi et al., 2013). A quercetina possui atividade antiviral relacionado à sua capacidade de se ligar às proteínas virais e interferir com a síntese de ácidos nucleicos (Formica & Regelson, 1995). Porém, o manjericão puro estudado não apresentou efeito inibitório para os microrganismos *S. aureus*, *Salmonella sp.* e *E. coli*. Provavelmente, a ausência da atividade antimicrobiana do manjericão pode ser atribuída à baixa concentração de agentes antimicrobianos presentes no extrato, material utilizado como solvente e processo de extração utilizado.

Nos queijos após 21 dias de armazenamento, os testes microbiológicos mostraram menor quantidade de microrganismos patogênicos nos queijos enriquecidos com manjericão (Tabela 3). Neste caso, o teor de polifenóis totais e a presença de óleos essenciais no manjericão podem ter criado condições que reduziram o crescimento de coliformes totais e *S. aureus*, associados com a qualidade do leite, a higiene no processo de fabricação e a atividade dos lactobacilos do leite bubalino.

Tabela 3: Contagem de coliformes totais, *S. aureus* e *Salmonella sp.* em queijos tipo frescais, em duplicata, com 21 dias de armazenamento a 4°C

	Coliformes totais (UFC/g)	<i>S. aureus</i> (UFC/g)	<i>Salmonella sp</i> (UFC/g)
Controle	$3,7 \times 10^3$	1×10^3	Ausente
2,5 g/kg	$7,5 \times 10^2$	5×10^1	Ausente
5,0 g/kg	$1,25 \times 10^3$	5×10^1	Ausente
7,5 g/kg	$2,65 \times 10^3$	$3,5 \times 10^2$	Ausente

UFC: Unidades formadoras de colônia

3.9 Análises sensoriais

A análise sensorial é uma ferramenta de grande importância na elaboração de produtos novos. Os queijos foram avaliados por 101 provadores e os resultados estão descritos na Tabela 4. As notas variaram entre 6 (gosto ligeiramente) e 7 (gosto moderadamente). Considerando a concentração de manjericão adicionada, queijos com 2,5 e 5,0 g/kg de manjericão apresentaram as melhores notas em relação à cor, textura, sabor e aceitabilidade geral. Em relação ao aroma, as notas foram 7 para todos os queijos.

Tabela 4: Análise sensorial de queijos tipo frescais elaborados com leite bubalino e enriquecidos com manjeriço

Tratamentos	Análise sensorial			
	0,25%	0,5%	0,75%	Valor P
Cor	7,49±0,130 ^a	7,24±0,130 ^a	6,64±0,162 ^b	<0,01
Aroma	7,39±0,132	7,57±0,123	7,32±0,117	0,353
Textura	7,82±0,105 ^a	7,52±0,129 ^{ab}	7,18±0,130 ^b	0,001
Sabor	7,53±0,121 ^a	7,32±0,152 ^{ab}	6,86±0,146 ^b	0,003
Aceitabilidade geral	7,63±0,103 ^a	7,38±0,127 ^a	6,95±0,140 ^b	0,001

Médias com diferentes letras maiúsculas na mesma coluna possuem diferença significativa ($P < 0.05$). Médias com diferentes letras minúsculas na mesma linha possuem diferença significativa ($P < 0.05$). Os resultados estão expressos em média \pm desvio padrão, em triplicata.

Percebe-se que queijos elaborados com 7,5 g/kg de manjeriço apresentaram notas menores, pois altas concentrações de manjeriço resultaram em cor, sabor e aroma mais marcante de manjeriço, textura arenosa e com maior grau de granularidade, os quais diminuíram a aceitabilidade dos queijos. Esses dados concordam com Fadavi & Beglaryan (2013) que observaram menor aceitabilidade de queijos Feta elaborados com doses maiores de hortelã e com Torri et al., (2016) que obtiveram maior aceitabilidade de queijos prato elaborados com a menor dose de pó de casca de uva.

A adição de compostos bioativos em alimentos pode causar amargor e afetar negativamente a cor, o sabor e a textura dos alimentos (Verbeke, 2006; Giroux et al., 2013) o que conduz à diminuição da aceitabilidade do consumidor, limitando o uso de extratos funcionais de plantas em doses mais elevadas (Ares, Barreiro, Deliza, & Gámbaro, 2009).

4. CONCLUSÕES

O manjeriço possui características favoráveis para a fabricação de queijos tipo frescais elaborados com leite bubalino. O manjeriço enriqueceu os queijos com compostos bioativos contendo boa atividade antioxidante, apresentando impacto positivo na preservação dos queijos e foi aceito sensorialmente pelos consumidores, com preferência aos queijos elaborados com 2,5 e 5,0 g/kg de manjeriço.

5. REFERÊNCIAS

- Abd El-Salam, M. H., & El-Shibiny, S. (2011). A comprehensive review on the composition and properties of buffalo milk. *Dairy Science & Technology*, 91(6), 663. <https://doi.org/10.1007/s13594-011-0029-2>
- Ares, G., Barreiro, C., Deliza, R., & Gámbaro, A. (2009). Alternatives to reduce the bitterness, astringency and characteristic flavour of antioxidant extracts. *Food*

- Research International*, 42(7), 871–878.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.03.006>
- Arvanitoyannis, I. S.; van Houwelingen-Koukaliaroglou, M. (201). Functional Foods: A Survey of Health Claims, Pros and Cons, and Current Legislation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 45:5, 385-404, <https://doi.org/10.1080/10408390590967667>
- AOAC Official Methods of Analysis. (1992) *Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C., 15th*(Volume 1), 136–138.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Balestrieri, M., Spagnuolo, M. S., Cigliano, L., Storti, G., Ferrara, L., Abrescia, P., & Fedele, E. (2002). Evaluation of oxidative damage in mozzarella cheese produced from bovine or water buffalo milk. *Food Chemistry*, 77(3), 293–299.
[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00347-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00347-8)
- Behling, E. B., Sendão, M. C., Francescato, H. D. C., Antunes, L. M. G., & Bianchi, M. D. L. P. (2004). Flavonóide Quercetina : Aspectos Gerais. *Alimentos e Nutrição - Brazilian Journal of Food and Nutrition*, 15(3), 285–292.
- Carocho, M., Barros, L., Barreira, J. C. M., Calhelha, R. C., Soković, M., Fernández-Ruiz, V., ... Ferreira, I. C. F. R. (2016). Basil as functional and preserving ingredient in “Serra da Estrela” cheese. *Food Chemistry*, 207, 51–59.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.085>
- CLSI. (2012). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard, Ninth Edition, *Clinical and Laboratory Standards Institute M07-A9*, 32(2)
- CLSI. (2015). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard, Twelfth Edition. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, 35(1) http://shop.clsi.org/site/Sample_pdf/M02A12_sample.pdf
- Dumbravă, D., & Moldovan, C. (2012). Vitamin C , chlorophylls , carotenoids and xanthophylls content in some basil (*Ocimum basilicum* L .) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L .) leaves extracts. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 18(3), 253–258.
- Fadavi, A., & Beglaryan, R. (2013). Optimization of UF-Feta cheese preparation, enriched by peppermint extract. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 952–959. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1051-6>
- Faion, A. M., Beal, P., Ril, F. T., Cichoski, A. J., Cansian, R. L., Valduga, A. T., ... Valduga, E. (2015). Influence of the addition of natural antioxidant from mate leaves (*Ilex paraguariensis* St. Hill) on the chemical, microbiological and sensory characteristics of different formulations of Prato cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 52(3), 1516–1524. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1045-4>
- Favorito, P. A., Echer, M. M., Offemann, L. C., Schlindwein, M. D., Colombare, L. F.,

- Schneider, R. P., & Hachmann, T. L. (2011). Características produtivas do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em função do espaçamento entre plantas e entre linhas. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, (SPECIAL ISSUE), 582–586.
- Flanigan, P. M., & Niemeyer, E. D. (2014). Effect of cultivar on phenolic levels, anthocyanin composition, and antioxidant properties in purple basil (*Ocimum basilicum* L.). *Food Chemistry*, 164, 518–526. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.061>
- Formica, J. V., & Regelson, W. (1995). Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology*, 33(12), 1061–1080. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(95\)00077-1](https://doi.org/10.1016/0278-6915(95)00077-1)
- Ghasemzadeh, A., Ashkani, S., Baghdadi, A., Pazoki, A., Jaafar, H. Z. E., & Rahmat, A. (2016). Improvement in flavonoids and phenolic acids production and pharmaceutical quality of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) by ultraviolet-B irradiation. *Molecules*, 21(9). <https://doi.org/10.3390/molecules21091203>
- Giroux, H. J., De Grandpré, G., Fustier, P., Champagne, C. P., St-Gelais, D., Lacroix, M., & Britten, M. (2013). Production and characterization of Cheddar-type cheese enriched with green tea extract. *Dairy Science and Technology*, 93(3), 241–254. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0119-4>
- Gülçin, İ. (2010). Antioxidant properties of resveratrol: A structure–activity insight. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 210–218. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.07.002>
- Hala, M. F. E.-D., Ebtisam, I. G., Sanaa, M. A. B., Gad, A. S., & Marwa, M. E.-S. (2010). Manufacture of Low Fat UF-Soft Cheese Supplemented with Rosemary Extract (as Natural Antioxidant). 6 (10), 6(10), 570–579. Recuperado de http://www.jofamericanscience.org/journals/am-sci/am0610/65_3487am0610_570_579.pdf
- Han, J., Britten, M., St-Gelais, D., Champagne, C. P., Fustier, P., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2011). Polyphenolic compounds as functional ingredients in cheese. *Food Chemistry*, 124(4), 1589–1594. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.021>
- Harbourne, N., Jacquier, J. C., & O’Riordan, D. (2011). Effects of addition of phenolic compounds on the acid gelation of milk. *International Dairy Journal*, 21(3), 185–191. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.10.003>
- Hussain, A. I., Anwar, F., Hussain Sherazi, S. T., & Przybylski, R. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108(3), 986–995. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.010>
- Ifesan, B.O.T.; Ijarotimi, O.S.; Osundahunsi, O. F. (2006). Evaluation of the antioxidant activity of *Ocimum sp.* *Journal of food technology* 4(4) 318-321.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., & Vivanco, J. M. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. *Food Chemistry*, 83(4),

- 547–550. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00151-1](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00151-1)
- Karadag, A., Ozcelik, B., & Saner, S. (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*, 2(1), 41–60. <https://doi.org/10.1007/s12161-008-9067-7>
- Karaosmanuglu, H & Kilmartin, P.A. (2015). Tea extracts as antioxidants for food preservation. In: Shahidi, F., Woodhead Publishing, *Handbook of Antioxidants for Food Preservation*. 219-233, Cambridge, UK.
- Khalid, K. A. (2006). Influence of water stress on growth, essential oil, and chemical composition of herbs (*Ocimum* sp.). *International Agrophysics*, 20(4), 289–296. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.05.034>
- Kittipongpittaya, K., Panya, A., Phonsatta, N., & Decker, E. A. (2016). Effects of Environmental pH on Antioxidant Interactions between Rosmarinic Acid and ??-Tocopherol in Oil-in-Water (O/W) Emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(34), 6575–6583. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02700>
- Kwee, E. M., & Niemeyer, E. D. (2011). Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 128(4), 1044–1050. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.011>
- Lee, J., & Scagel, C. F. (2009). Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. *Food Chemistry*, 115(2), 650–656. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.075>
- Li, W., Hydamaka, A. W., Lowry, L., & Beta, T. (2009). Comparison of antioxidant capacity and phenolic compounds of berries, chokecherry and seabuckthorn. *Central European Journal of Biology*, 4(4), 499–506.
- Librán, C. M., Moro, A., Zalacain, A., Molina, A., Carmona, M., & Berruga, M. I. (2013). Potential application of aromatic plant extracts to prevent cheese blowing. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(7), 1179–1188. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1280-x>
- Lin, Y., & Yan, Y. (2012). Biosynthesis of caffeic acid in *Escherichia coli* using its endogenous hydroxylase complex. *Microbial cell factories*, 11, 42. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-11-42>
- Luna, M. C., Bekhradi, F., Ferreres, F., Jordán, M. J., Delshad, M., & Gil, M. I. (2015). Effect of Water Stress and Storage Time on Anthocyanins and Other Phenolics of Different Genotypes of Fresh Sweet Basil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(42), 9223–9231. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04131>
- Marinho, M. T., Bersot, L. dos S., Nogueira, A., Colman, T. A. D., & Schnitzler, E. (2015). Antioxidant effect of dehydrated rosemary leaves in ripened semi-hard cheese: A study using coupled TG–DSC–FTIR (EGA). *LWT - Food Science and Technology*, 63(2), 1023–1028. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.108>
- McCance, K. R., Flanigan, P. M., Quick, M. M., & Niemeyer, E. D. (2016). Influence of plant maturity on anthocyanin concentrations, phenolic composition, and

- antioxidant properties of 3 purple basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 53, 30–39. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2016.08.009>
- Meilgaard, M.; Civille, G. V.; Carr, B. T. *Sensory Evaluation Techniques*. 2nd ed. Florida: CRC, cap. 9. 1988
- O’Connell, J. E., & Fox, P. F. (2001). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *International Dairy Journal*, 11(3), 103–120. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00033-4)
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Roberfroid, M. (2002). Functional food concept and its application to prebiotics. *Digestive and Liver Disease*, 34, S105–S110. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S1590-8658\(02\)80176-1](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S1590-8658(02)80176-1)
- Sánchez, N., Miranda, S., Vit, P., Rodríguez-Malaver, A. J., (2010). Propolis protects against oxidative stress in human saliva. *J. ApiProd. ApiMed. Sci.* 2, 72–76.
- Scagel, C. F., & Lee, J. (2012). Phenolic composition of basil plants is differentially altered by plant nutrient status and inoculation with mycorrhizal fungi. *HortScience*, 47(5), 660–671.
- Silva, D.F., Matumoto-Pintro, P. T., Bazinet, L., Couillard, C., & Britten, M. (2015). Effect of commercial grape extracts on the cheese-making properties of milk. *Journal of Dairy Science*, 98(3), 1552–1562. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8796>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
- Slavin, J. (2013). Fiber and prebiotics: mechanisms and health benefits. *Nutrients*, 5(4), 1417–1435. <https://doi.org/10.3390/nu5041417>
- Takahashi, H., Kashimura, M., Koiso, H., Kuda, T., & Kimura, B. (2013). Use of ferulic acid as a novel candidate of growth inhibiting agent against *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food. *Food Control*, 33(1), 244–248. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.03.013>
- Torri, L., Piochi, M., Marchiani, R., Zeppa, G., Dinnella, C., & Monteleone, E. (2016). A sensory- and consumer-based approach to optimize cheese enrichment with grape skin powders. *Journal of dairy science*, 99(1), 194–204. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9922>
- Verbeke, W. (2006). Functional foods: Consumer willingness to compromise on taste for health? *Food Quality and Preference*, 17(1–2), 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2005.03.003>
- Woisky, R.G., Salatino, A., (1998). Analysis of propolis: some parameters and

procedures for chemical quality control. *J. Agric. Res.* (37) 99–105.

- Zhu, Q. Y., Hackman, R. M., Ensunsa, J. L., Holt, R. R., & Keen, C. L. (2002). Antioxidative Activities of Oolong Tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23), 6929–6934. <https://doi.org/10.1021/jf0206163>
- Zulueta, A., Maurizi, A., Frígola, A., Esteve, M. J., Coli, R., & Burini, G. (2009). Antioxidant capacity of cow milk, whey and deproteinized milk. *International Dairy Journal*, 19(6–7), 380–385. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.02.003>

IV- Influência da adição de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) nas características tecnológicas de queijo tipo frescal de leite de búfala¹

1- Elaborado segundo normas da revista LWT - Food Science and Technology

RESUMO

O manjeriço (*Ocimum basilicum* Lamiaceae) é uma planta rica em polifenóis e com propriedades antioxidantes. Os polifenóis do manjeriço podem associar-se as caseínas do leite gerando modificações nas propriedades tecnológicas dos produtos formados. Neste trabalho objetiva-se determinar os efeitos da adição de manjeriço em três concentrações (2,5, 5,0 e 7,5 g/kg) comparados com o controle, na composição físico-química, microbiológica, reológica e microestrutural de queijos tipo frescais elaborados com leite de búfala orgânico armazenados com até 21 dias. A adição de manjeriço não modificou o teor de gordura, proteína, umidade e matéria mineral dos queijos elaborados; houve menor rendimento e maior acidez nos queijos com a adição de manjeriço. A cor dos queijos formulados com manjeriço apresentou-se mais escura, verde e amarelo. A inclusão de manjeriço alterou a dureza e a mastigabilidade porém não a elasticidade e a coesividade. A microestrutura mostrou-se menos homogênea em relação aos queijos controle. A inclusão de manjeriço pode afetar as características tecnológicas dos queijos tipo frescais, podendo interferir na aceitabilidade do consumidor quando adicionado em maiores concentrações.

Palavras-chave: acidez, cor, microestrutura, polifenóis, textura.

1. INTRODUÇÃO

O queijo é produto da desidratação parcial do leite, no qual a gordura e a caseína são concentradas entre seis e doze vezes, dependendo da variedade do queijo (Robertson, 2012). Queijos tipo frescais são muito apreciados e possuem como características físicas a consistência branda, macia, textura com ou sem olhaduras mecânicas, cor esbranquiçada, sabor suave ou levemente ácido e odor suave (Brasil, 2004).

Compostos fenólicos, produtos secundários do metabolismo de plantas, têm sido sugeridos como compostos bioativos, graças a sua capacidade antioxidante e seus efeitos benéficos na saúde humana (Han et al., 2011a). As adições de plantas condimentares ricas em compostos fenólicos em queijos têm sido relatadas anteriormente (Fadavi & Beglaryan, 2013; Rashidinejad, Birch, Sun-Waterhouse, & Everett, 2014; Asensio, Grosso, & Rodolfo Juliani, 2015). Esses compostos mostram forte interação com as caseínas do leite (Bandyopadhyay, Ghosh, & Ghosh, 2012; Hasni et al., 2011) por meio de interações hidrofóbicas, pontes de hidrogênio, iônicas e covalentes (Han et al., 2011a).

A adição de plantas condimentares na fabricação de queijos pode afetar as suas características físico-químicas, estruturais e texturais (Han et al., 2011b; Giroux et al., 2013; Torri et al., 2016). Porém, há poucos estudos mostrando os efeitos dos polifenóis de plantas condimentares utilizando queijos tipo frescais. Desta forma, esse estudo objetiva (I) determinar os efeitos da adição do manjericão na composição química, rendimento, altura e diâmetro dos queijos, (II) os efeitos na textura e microestrutura de queijos; (III) avaliar o pH e o crescimento de lactobacilos durante 21 dias de armazenamento nos queijos tipo frescal elaborados com leite de búfala orgânico.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

O leite foi obtido no Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) na estação experimental da Lapa/PR sendo proveniente de quinze fêmeas bubalinas Murrah criadas em sistema de orgânico através de ordenha mecanizada. Foram coletados em dois dias distintos, 15 litros de leite que foram pasteurizados a 65 °C por 30 minutos e refrigerados a 4±1°C.

2.1.2 Reagentes:

Cloreto de cálcio foi proveniente da Sigma Aldrich (Spruce Street, St Louis, EUA). A protease foi oriunda de HA-LA (Chr-Hansen A/S, Dinamarca). Os outros reagentes foram utilizados em grau analítico.

2.1.3 Manjericão

O manjericão (*Ocimum basilicum* L.) foi fornecido de um produtor local em Maringá/PR/ Brasil (23° 25' 31" de latitude Sul e 51° 56' 19" de longitude oeste). Após a higienização com água corrente e hipoclorito de sódio (200 ppm, 5 minutos), galhos e folhas foram colocados em estufa a 55 °C. Após, o manjericão foi moído e peneirado a 60 mesh e acondicionado ao abrigo de luz sob 4±1 °C.

2.2 Caracterização do leite e do manjericão

Para determinação da composição química do leite (Tabela 1), as amostras foram homogeneizadas e analisadas em equipamento automatizado Ekomilk Total (Cap-Lab, São Paulo, Brasil). O método de contagem de células somáticas foi realizado por meio de equipamento Ekomilk Scan calibrado previamente (Cap-Lab, São Paulo, Brasil).

A composição química do manjericão foi determinada através de análises de proteína bruta, extrato etéreo, fibra alimentar, matéria orgânica e matéria mineral segundo a Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1992) e calculadas com base na matéria seca (Tabela 1).

Tabela 1: Composição físico-química do leite bubalino e do manjericão utilizados para elaboração dos queijos tipo frescal

Composição físico-química do leite bubalino (g/100 g)	
Gordura	7,12±0,14
Proteína	3,98±0,06
Lactose	4,15±0,21
pH	6.94±0,02
Contagem de células somáticas (cel/ml)	90
Composição química do Manjericão (g/100 g MS)	
Matéria seca	11,86±0,10
Proteína bruta	8,56±0,12
Extrato etéreo	3,24±0,73
Fibra bruta	11,79±0,22
Matéria mineral	14,25±0,08

Média ± desvio padrão, em triplicata.

2.2 Fabricações dos queijos tipo frescais

Os queijos foram fabricados em quatro formulações: queijos controle sem adição do manjericão e adicionados de 2,5, 5,0 e 7,5 g/kg de manjericão. Cada queijo foi fabricado utilizando 250 mL de leite de búfala aquecido a 37 °C adicionou-se solução de cloreto de cálcio (0,1 mL) e enzima protease (HA-LA) (2,5 mg). Após a mexedura, colocou em estufa a 35 °C por 45 min. O corte da massa foi feito com descanso de 15 min. e posteriormente a enformagem. Após a enformagem, os queijos foram mantidos em repouso por uma hora a 4±1 °C fez-se a viragem e passados 30 min., os queijos foram embalados e permaneceram sob refrigeração por até 21 dias. Para fabricação dos outros queijos, o manjericão era misturado ao leite antes do aquecimento a 37 °C. A altura e diâmetro foram medidos em cm para cada queijo fabricado. O cálculo do rendimento da fabricação dos queijos em porcentagem foi mensurado através da quantidade de queijo produzida dividido pelo volume inicial de leite.

2.3 Análises realizadas nos queijos

2.3.1 Composição química

A composição química foi realizada através de análise de umidade, proteína bruta, gordura, matéria mineral nos queijos com três dias de armazenamento; pH e acidez titulável nos queijos com 1, 7, 14 e 21 dias de armazenamento.

A umidade foi determinada pesando dez gramas de queijos em tubos falcon, congelados em nitrogênio líquido e liofilizados por 24 horas. A matéria mineral foi determinada sequencialmente a matéria seca, através da calcinação em mufla (AOAC, 1992). A proteína bruta foi obtida pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1992). O teor de gordura dos queijos foi realizado por extração com clorofórmio, metanol e água (2:2:1,8) de acordo com o método de Bligh & Dyer (1959).

A mudança do pH foi determinada usando um pHmetro digital (Testo 205) previamente calibrado medindo-se em três pontos distintos em cada amostra, em triplicada para cada tratamento. Acidez titulável foi mensurada conforme metodologia específica para queijos descrita por Instituto Adolfo Lutz (2008).

2.3.2 Microbiologia

O número de UFC de bactérias ácido lácticas foi determinado nos queijos com 1, 15 e 21 dias de armazenamento. Amostras de 10 g de cada queijo foram homogeneizadas com 90 mL de água peptonada 0,1% estéril, foram realizadas diluições decimais seriadas utilizando-se o mesmo diluente. Alíquotas de 0,1 mL das diluições foram adicionadas à superfície do ágar De Man-Rogosa-Sharpe – MRS e as placas foram incubadas a 30 °C por 48 horas (Silva; Junqueira & Silveira, 1997). Após 48 horas, as colônias típicas de lactobacilos foram enumeradas.

2.3.3 Instrumental

A cor foi determinada para os queijos e para o manjericão através de colorímetro Konica Minolta utilizando escala CIELAB, mensurando L* (100 ¼ branco; 0 ¼ preto), a* (+, vermelho; -, verde) e b* (+, amarelo; -, azul) em três pontos distintos no mesmo queijo para três queijos de cada tratamento com 1, 7, 15 e 21 dias de armazenamento.

Para a análise do perfil de textura (TPA) nos queijos com 1, 7, 15 e 21 dias de armazenamento, as amostras foram retiradas da geladeira no momento da mensuração, pesadas e dessoradas. Utilizou-se o equipamento Brookfield texture analyzer-CT III (Engineering Laboratories, INC., Middleboro, MA, EUA), nas seguintes configurações:

TPA; velocidade do teste: 1 mm/s; distância de compressão 5 mm; probe TA4 cilíndrica de acrílico de 38 mm. Utilizou-se amostras de queijo inteiros em três queijos de cada tratamento e cada amostra sofreu dupla compressão na parte central dos queijos. As variáveis mensuradas para TPA foram: dureza, mastigabilidade, coesividade e elasticidade.

2.3.3 Estrutura

Para a análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) utilizou-se queijos com 10 dias de armazenamento, devido maior estabilidade. O preparo dos queijos foi realizado conforme metodologia descrita por Lobato-Calleros, Ramirez-Santiago, Osorio-Santiago & Vernon-Carter (2002) com modificações. As amostras de 0,5 cm de diâmetro e de altura foram fixadas em solução tampão de glutaraldeído 2% por 6 horas, após, desidratadas em álcool etílico com concentrações crescentes (50, 60, 70, 80, 90 e 100%) onde permaneciam 30 min. em cada solução e posteriormente foram colocadas em acetona por 1 hora. Posteriormente, as amostras foram congeladas em nitrogênio líquido e liofilizadas por 24 horas. Cada amostra de queijo foi quebrada e montada no *stub* onde a parte fraturada foi recoberta com uma camada de ouro por 120 segundos (Spotter coater, Baltec, SCD 050). As observações da microestrutura foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (Quanta 250 – FEI Company) operando em 15 kV a uma magnitude de 5000 vezes.

2.3.4 Análises Estatísticas

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância usando o modelo linear geral (GLM) com SPSS (v.15.0) (IBM SPSS Statistics, SPSS Inc., Chicago, USA) do Windows. Médias e desvio padrão foram calculados para cada variável. As concentrações de manjeriço (0, 2,5, 5,0 e 7,5 g/kg de manjeriço) e o tempo de estocagem (1, 7,15 e 21 dias) foram considerados fatores fixos no modelo fatorial para as variáveis pH e acidez titulável, rendimento, cor, dureza, mastigabilidade, coesividade e elasticidade havendo três repetições por tratamento para cada análise. Quando as diferenças foram estatisticamente significativas teste de Tukey foi utilizado com nível de significância de 5% de probabilidade.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição química dos queijos

Os efeitos da adição de manjeriço em concentrações crescentes na composição química de queijos tipo frescos estão descritos na Tabela 2. Apesar do acréscimo de

nutrientes provenientes do manjericão, sua inclusão como ingrediente funcional não alterou a quantidade de matéria mineral (44,2 a 44,3 g/kg), proteína (91,3 a 100,6 g/kg) e gordura (173,1 a 192,5 g/kg) dos queijos elaborados. Da mesma forma, queijos Prato elaborados com extrato de folhas de mate também não apresentaram diferença no teor de gordura e proteína (Faion et al., 2015) e queijos Cheedar enriquecidos com extrato de chá verde possuíram teor proteínas totais, gordura, sal e cálcio sem diferença entre as formulações (Giroux et al., 2013).

Tabela 2: Composição química dos queijos de acordo com as formulações, expresso em g/100 g de MS

Tratamentos	Composição química dos queijos (g/ 100 g MS)				Valor P
	Controle	2,5 g/Kg	5,0 g/Kg	7,5 g/Kg	
Umidade	61,44±0,06	60,30±0,83	60,31±0,12	58,57±1,81	0,141
Matéria Mineral	4,43±0,03	4,43±0,02	4,43±0,02	4,42±0,03	0,951
Proteína	23,67±0,26	24,43±0,84	25,34±0,40	24,25±0,30	0,068
Gordura	44,8±0,81	45,79±2,79	48,50±1,52	42,21±3,07	0,820

Média ± desvio padrão, em triplicata. Amostras com $P < 0,05$ possuem diferença significativa.

Nos queijos elaborados com manjericão houve pequena diminuição da umidade, devido maior sinérese no momento da fabricação. Fato também observado por Helal, Tagliacruzchi, Verzelloni, & Conte, (2015) que relatam pequena diminuição na umidade de queijos com a adição de ácido tânico. A presença de polifenóis pode reduzir levemente o pH do coágulo estimulando a contração da matriz protéica do queijo, reduzindo a quantidade de água aprisionada na rede protéica (Han et al., 2011b).

A maior sinérese no momento da fabricação influenciou o rendimento dos queijos elaborados com manjericão, havendo maior rendimento (39,81±0,14%) para os queijos controle em relação aos queijos fabricados com 2,5, 5 e 7,5 g/kg de manjericão (36,99±0,83, 35,18±0,67 e 35,10±1,01% respectivamente). Os queijos tiveram altura inicial de 2,06±0,06 cm e 6,99±0,06 cm de diâmetro os quais reduziram 20 e 5% com 21 dias de armazenamento (1,64±0,08 cm de altura e 6,64±0,08 cm de diâmetro) devido as perdas de umidade durante o período de armazenamento. O peso médio dos queijos com 1 dia de armazenamento (91,53±5,14 gramas) reduziu 30% com o armazenamento (65,26±2,71 gramas em média, para queijos com 21 dias).

3.5 pH e acidez titulável

O pH influencia em muitas propriedades dos queijos, alterando a solubilidade de minerais, como cálcio, o conteúdo de umidade, a extensão e o padrão da proteólise e suas interações, afetando consequentemente a textura e a microestrutura dos queijos

(Pastorino, Hansen, & McMahon, 2003). Os polifenóis podem reduzir o pH do leite dependendo do composto e da concentração adicionada (Han et al., 2011b).

Neste estudo, houve redução do pH e aumento da acidez titulável com o aumento da concentração de manjeriço adicionado aos queijos (Tabela 3) devido presença de polifenóis, fostatos e ácidos orgânicos. Os compostos fenólicos presentes no manjeriço podem ter se degradado a ácidos fenólicos monoméricos com diferentes concentrações de ácido (pKa) através de clivagem ou hidrólise oxidativa (Wegrzyn et al., 2008) reduzindo o pH do queijo. Além disso, os polifenóis podem estimular o crescimento das bactérias lácticas presentes no leite, reduzindo o pH com o aumento do tempo de armazenamento (21 dias). Essas bactérias lácticas degradam a lactose, tendo como produto final CO₂ e ácido láctico, o que eleva a acidez dos queijos (Faion et al., 2015). Fato também observado no queijo turco Otlu suplementado com até 3% de *Allium* sp. (Coskun & Tuncturk, 2000), no queijo gordo suplementado com até 500 ppm de catequinas (Rashidinejad, Birch, & Everett, 2016) e em queijos macios e com teor reduzido de gordura suplementados com até 5% de extrato de alecrim (Hala, Ebtisam, Sanaa, Gad, & Marwa, 2010).

Tabela 3: pH e acidez titulável de queijos tipo frescal elaborados com diferentes quantidades de manjeriço, no período de 1 até 21 dias de armazenamento a 4±1 °C

Tratamentos					
	Controle	2,5 g/kg	5,0 g/kg	7,5 g/kg	Valor P
pH					
1 dia	6,42±0,02 ^{Aa}	6,21±0,01 ^{Ab}	6,11±0,01 ^{Ac}	6,07±0,01 ^{Ac}	<0,001
7 dias	6,28±0,04 ^{Ba}	6,16±0,01 ^{Ab}	6,08±0,01 ^{Ac}	6,03±0,00 ^{Ac}	<0,001
15 dias	6,20±0,02 ^{Ca}	5,80±0,03 ^{Bb}	5,71±0,01 ^{Cc}	5,65±0,01 ^{Bc}	<0,001
21 dias	6,05±0,01 ^{Da}	5,83±0,01 ^{Bb}	5,75±0,01 ^{Bc}	5,68±0,02 ^{Bd}	<0,001
Valor P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	
Acidez Titulável					
1 dia	0,0055±0,0013 ^{Cd}	0,0064±0,0013 ^{Bc}	0,0073±0,0012 ^{Cb}	0,0087±0,0012 ^{Da}	<0,001
7 dias	0,0059±0,0011 ^{BCc}	0,0067±0,0015 ^{Bc}	0,0079±0,0012 ^{Cb}	0,0096±0,0012 ^{Ca}	<0,001
15 dias	0,0069±0,0012 ^{Bd}	0,0105±0,0012 ^{Ac}	0,0119±0,0012 ^{Bb}	0,0133±0,0014 ^{Ba}	<0,001
21 dias	0,0089±0,0015 ^{Ac}	0,0112±0,0012 ^{Ab}	0,0147±0,0012 ^{Aa}	0,0156±0,0011 ^{Aa}	<0,001
Valor P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

Médias com diferentes letras maiúsculas na mesma coluna possuem diferença significativa (P<0,05). Médias com diferentes letras minúsculas na mesma linha possuem diferença significativa (P<0,05). Os resultados estão expressos em média ± desvio padrão, em triplicata.

3.6 Quantidade de lactobacilos

Na fabricação dos queijos, não utilizou-se cultura *starter*, porém houve crescimento de lactobacilos. Isto porque alguns gêneros de lactobacilos são termodúricos e resistem

a pasteurização do leite (Delgado et al., 2013). Nos queijos com 1 dia de armazenamento, a contagem de lactobacilos ficou entre 5×10^3 e $2,1 \times 10^4$ UFC/ml. Com o aumento do tempo de armazenamento, a quantidade de lactobacilos dobrou (entre 2×10^5 e $4,6 \times 10^6$ UFC/ml com 15 dias e entre 1×10^6 e $3,85 \times 10^6$ UFC/mL com 21 dias de armazenamento respectivamente). Houve maior quantidade de lactobacilos nos queijos com 21 dias coincidindo com a maior acidez nos queijos neste período. Segundo Ma, Gong, Liu, Ma, & Chen, (2015) os polifenóis do chá estimulam o crescimento de *Lactobacillus casei* durante a fermentação do leite.

3.7 Cor

Na elaboração de novos produtos, a apresentação visual é essencial para a aceitabilidade do consumidor. O manjericão apresentou $43,86 \pm 0,516$ de luminosidade, $-2,025 \pm 0,021$ de a^* e $17,30 \pm 0,106$ de b^* ; A cor de queijos elaborados com leite bubalino e adição de manjericão foi determinada no período de 1 a 21 dias de armazenamento e está apresentada na Tabela 4.

O leite bubalino possui como característica a coloração branca em virtude da ausência de pigmentos carotenóides (Andriguetto, 2011). A adição de 5,0 e 7,5 g/kg de manjericão resultaram em maiores alterações na coloração dos queijos. Estes queijos apresentaram menor luminosidade, cores tendendo ao verde e ao amarelo em relação aos queijos controle e com 2,5 g/kg de manjericão.

Com o tempo de armazenamento, os queijos apresentaram maior tendência ao amarelo. A presença de altos teores de compostos fenólicos em queijos é responsável por descoloração catalisada por enzima (O'Connell & Fox, 2001) o que pode aumentar a coloração amarela dos queijos com manjericão. Os dados mostrados corroboram com os encontrados por Giroux et al., (2013), que obteve menor luminosidade e tom amarelado com adição de extrato de chá verde em queijos Cheddar.

Tabela 4: Caracterização da cor de queijos elaborados com manjeriço

	Tratamentos				Valor P
	Controle	2,5 g/kg	5,0 g/kg	7,5 g/kg	
L*					
1 dia	91,21±0,13 ^a	81,73±2,25 ^b	74,13±4,63 ^c	65,67±0,73 ^d	<0,001
7 dias	91,14±0,21 ^a	81,30±1,82 ^b	74,74±3,28 ^c	67,46±0,77 ^d	<0,001
15 dias	91,26±0,07 ^a	80,50±2,20 ^b	71,62±0,89 ^c	64,54±3,77 ^d	<0,001
21 dias	91,65±0,42 ^a	81,55±1,43 ^b	70,22±2,15 ^c	66,11±4,03 ^c	<0,001
Valor P	0,426	0,727	0,302	0,659	
a*					
1 dia	1,75±0,08 ^{Ba}	0,83±0,05 ^{ab}	-0,09±0,21 ^{bc}	-0,48±0,62 ^c	<0,001
7 dias	1,80±0,14 ^{Ba}	1,18±0,16 ^b	-0,37±0,11 ^c	-0,43±0,11 ^c	<0,001
15 dias	1,58±0,06 ^{Ba}	0,93±0,14 ^b	0,01±0,10 ^c	-0,11±0,35 ^c	<0,001
21 dias	2,17±0,15 ^{Aa}	1,14±0,28 ^b	-0,24±0,19 ^c	-0,28±0,29 ^c	<0,001
Valor P	0,001	0,215	0,079	0,658	
b*					
1 dia	0,84±0,11 ^{Bd}	6,14±1,05 ^c	7,71±0,67 ^{ABb}	10,63±0,50 ^{ABa}	<0,001
7 dias	1,18±0,27 ^{Bd}	5,78±0,14 ^c	7,48±0,38 ^{Bb}	10,74±0,29 ^{Aa}	<0,001
15 dias	1,27±0,09 ^{Bc}	5,55±1,05 ^b	9,00±0,25 ^{Aa}	9,18±0,34 ^{Ba}	<0,001
21 dias	1,97±0,19 ^{Ac}	6,34±0,81 ^b	8,98±0,81 ^{Aa}	10,51±0,92 ^{ABa}	<0,001
Valor P	0,003	0,735	0,019	0,032	

Médias com diferentes letras maiúsculas na mesma coluna possuem diferença significativa ($P < 0.05$). Médias com diferentes letras minúsculas na mesma linha possuem diferença significativa ($P < 0.05$). Os resultados estão expressos em média \pm desvio padrão, em triplicata.

3.3 Textura dos queijos

A textura é um importante fator para a aceitação sensorial dos alimentos. Os parâmetros de textura mensurados nos queijos de 1 à 21 dias estão descritos na Tabela 5.

A dureza é a força necessária para ocorrer uma deformação (Szczeniak, 2002). A mastigabilidade é um parâmetro secundário de textura depende da dureza, da coesividade e da elasticidade (Chevanan, Muthukumarappan, Upreti, & Metzger, 2006) sendo definida como a medida da energia necessária para mastigar o queijo até um estado uniforme antes de engolir (Ong, Dagastine, Kentish, & Gras, 2012). A elasticidade é uma medida da recuperação da condição original não deformada depois que a primeira força de compressão é removida e a coesividade é uma medida da extensão à qual um queijo pode ser deformado antes de romper (Ong et al., 2012)(Ong et al., 2012). Esses parâmetros são afetados pela composição do leite, procedimentos de fabricação de queijos, composição dos queijos, ação de microrganismos, condições de maturação e principalmente umidade, pH e cálcio solúvel (Lucey, Johnson, & Horne, 2003; McMahon, Paulson, & Oberg, 2005).

Tabela 5: Parâmetros de dureza, coesividade, elasticidade e mastigabilidade dos queijos formulados

	Tratamentos				Valor P
	Controle	2,5 g/kg	5,0 g/kg	7,5 g/kg	
Dureza (g)					
1 dia	498,33±76,86 ^{Bc}	600,00±14,14 ^{Bbc}	731,66±49,07 ^{Bb}	908,33±35,47 ^a	<0,001
7 dias	585,00±50,00 ^{ABb}	630,00±13,23 ^{Bb}	696,66±60,28 ^{Bab}	815,00±65,57 ^a	0,003
15 dias	661,66±120,14 ^{ABb}	822,50±17,68 ^{Aab}	868,33±49,33 ^{Aab}	1111,66±145,11 ^a	0,007
21 dias	740,00±0,00 ^{Ab}	813,33±29,29 ^{Ab}	910,00±47,69 ^{Aab}	1110,00±181,93 ^a	0,019
Valor P	0,045	<0,001	0,003	0,069	
Mastigabilidade (mJ)					
1 dia	16,33±2,23 ^{Bc}	22,30±3,53 ^{bc}	26,53±1,95 ^{ABab}	31,60±1,48 ^{Aa}	<0,001
7 dias	14,06±0,75 ^{Bb}	20,23±4,34 ^{ab}	23,30±2,29 ^{Ba}	23,30±0,62 ^{Ba}	0,006
15 dias	24,20±0,55 ^{Ac}	26,20±0,28 ^{bc}	31,47±2,62 ^{Aab}	34,10±2,30 ^{Aa}	0,001
21 dias	23,85±0,92 ^{Ab}	29,93±4,41 ^{ab}	28,36±0,87 ^{ABab}	33,00±0,95 ^{Aa}	0,028
Valor P	<0,001	0,088	0,007	<0,001	
Coesividade					
1 dia	0,79±0,09	0,89±0,07	0,81±0,01	0,82±0,01	0,392
7 dias	0,70±0,05	0,83±0,21	0,81±0,01	0,81±0,07	0,191
15 dias	0,81±0,05	0,80±0,01	0,79±0,070	0,77±0,07	0,811
21 dias	0,83±0,01	0,85±0,14	0,81±0,03	0,82±0,03	0,931
Valor P	0,200	0,865	0,829	0,601	
Elasticidade (mm)					
1 dia	4,22±0,09	4,25±0,23	4,18±0,05	4,30±0,04	0,608
7 dias	3,96±0,53	3,89±0,32	3,88±0,18	4,03±0,32	0,949
15 dias	4,05±0,16	4,07±0,05	4,16±0,16	4,10±0,11	0,803
21 dias	3,95±0,11	4,05±0,35	3,93±0,08	4,05±0,19	0,867
Valor P	0,718	0,644	0,084	0,392	

Médias com diferentes letras maiúsculas na mesma coluna possuem diferença significativa ($P < 0.05$). Médias com diferentes letras minúsculas na mesma linha possuem diferença significativa ($P < 0.05$). Os resultados estão expressos em média \pm desvio padrão, em triplicata.

Os compostos presentes no manjericão como os polifenóis e as fibras interferiram na dureza e mastigabilidade dos queijos. Em relação aos polifenóis, Giroux et al, (2013) e Lamothe, Langlois, Bazinet, Couillard, & Britten, (2016) também observaram aumento da dureza em queijos Cheddar enriquecidos com extrato de chá verde. A influencia dos polifenóis na textura ocorre de maneira indireta, a redução do pH (valores próximos a 5.0) em queijos formulados com polifenóis pode reduzir a umidade dos queijos e alterar a concentração de cálcio solúvel (Han et al., 2011b) tornando o queijo menos coeso e menos elástico (Pastorino et al., 2003). O menor pH encontrado neste estudo foi 5,65 o que foi insuficiente para causar grandes mudanças na elasticidade e coesividade dos queijos. Observa-se que houve pequena redução da elasticidade com o aumento do período de armazenamento, o que indica pequena quebra estrutural dos queijos (Tunick et al., 1993).

Provavelmente, nos queijos formulados com manjericão, parte da umidade ficou absorvida na fibra do manjericão aumentando assim a dureza. El-shibiny et al., (2013)

observaram aumento da dureza de pastas de queijos fundidos formulados com farelo de arroz e associa ao alto teor de fibras e carboidratos do ingrediente adicionado.

O tempo de armazenamento também influenciou a dureza e mastigabilidade dos queijos, pois com o maior tempo de armazenamento houve maior sinérese (Tabela 5). A redução da umidade aumenta a dureza do queijo uma vez que o volume da fração proteica aumenta (Lucey et al., 2003).

3.4 Microestrutura dos queijos

A microscopia eletrônica é uma importante ferramenta para visualizar a localização dos vários componentes estruturais do queijo. A microscopia eletrônica dos queijos deste estudo (Figura 1) mostra a estrutura interna dos queijos com a matriz proteica contendo glóbulos de gordura intercalada com áreas escuras. As áreas escuras representam os poros que correspondem a bolsas de ar ou a fase aquosa que evaporou durante a preparação das amostras (Ong et al., 2012).

Os queijos controle apresentaram microestrutura mais homogênea, com estrutura mais fechada, pequenos agregados de caseína, glóbulos de gordura pequenos, áreas escuras menores e regulares (Figura 1- A). Os queijos formulados com manjeriço apresentaram estrutura desuniforme, com redes de caseína mais grosseiras e as áreas escuras são maiores (Figura 1 – B, C e D). A adição de catequinas em queijo gordo também demonstrou uma disposição de agregados não homogêneos, causando rearranjos e um padrão heterogêneo das micelas de caseína (Rashidinejad, Birch & Everett, 2016).

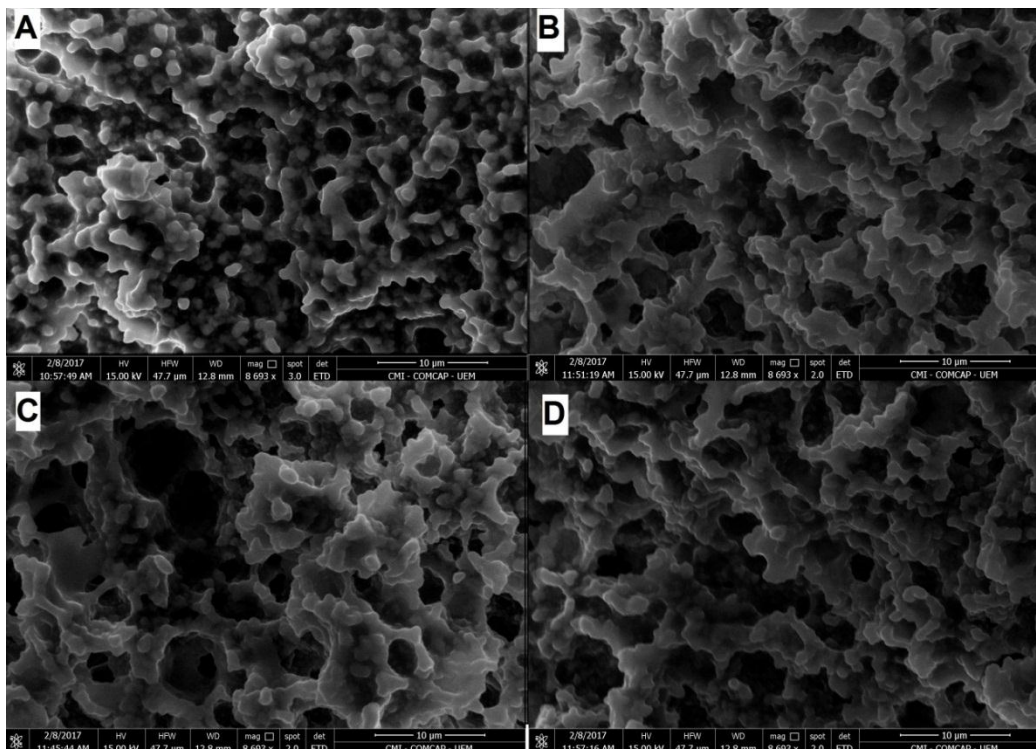


Figura 1: Imagens de microscopia eletrônica de varredura de queijos com dez dias de armazenamento. (A) controle; (B) queijos com 2.5 g/kg de manjericão; (C) queijos com 5.0 g/kg de manjericão; (D) queijos com 7.5 g/kg de manjericão.

Os queijos formulados com manjericão formaram uma massa heterogênea (Figura 2). O manjericão continha fibras que não solubilizaram ao leite e polifenóis. Segundo Han et al (2011b), queijos com polifenóis podem induzir a estruturas intercaladas e heterogêneas devido às interações dos polifenóis com a gordura e proteínas.

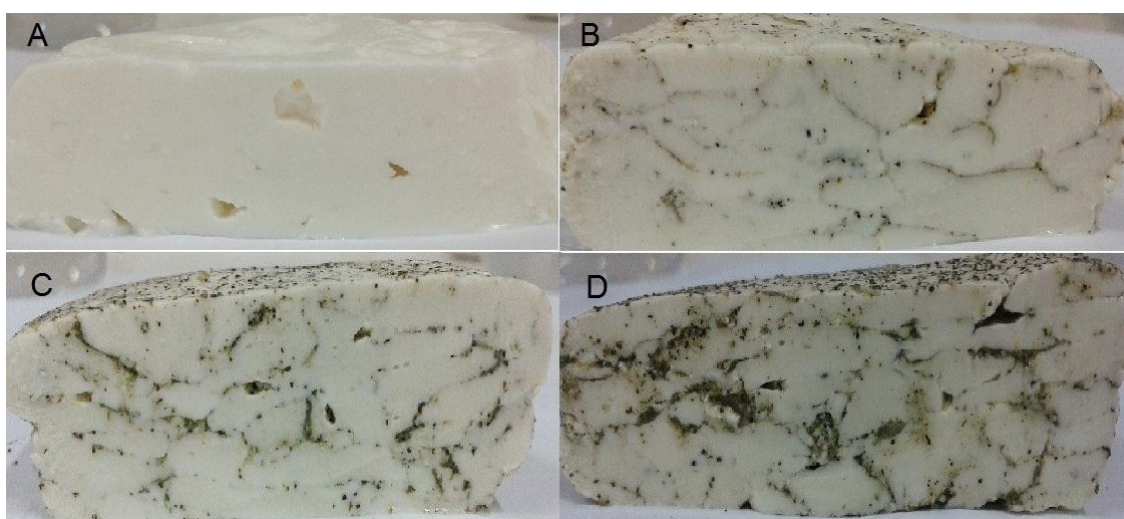


Figura 2: fotos dos queijos tipo frescal com 1 dia de armazenamento nas quatro concentrações de manjericão. (A) controle; (B) queijos com 2.5 g/kg de manjericão; (C) queijos com 5.0 g/kg de manjericão; (D) queijos com 7.5 g/kg de manjericão.

4. CONCLUSÕES

A inclusão de concentrações crescentes de manjeriço em queijos tipo frescais elaborados com leite bubalino orgânico podem causar importantes alterações tecnológicas nos queijos. Os compostos bioativos do manjeriço reduziram o pH e estimulam o crescimento de bactérias lácticas, causaram alterações na coloração, textura e microestrutura dos queijos formulados. As maiores alterações tecnológicas ocorreram nos queijos formulados com 5 e 7,5 g/kg MS de manjeriço.

5. REFERÊNCIAS

- Andriquetto, C. (2011). Cadeia Produtiva Do Leite De Búfala - Visão Da Universidade. II Simpósio Da Cadeia Produtiva Da Bubalinocultura. *1º International Symposium Of Buffalo Production Chain*.
- AOAC. (1992). AOAC Official Methods of Analysis. *Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C., 15th*(Volume 1), 136–138.
- Asensio, C. M., Grosso, N. R., & Rodolfo Juliani, H. (2015). Quality preservation of organic cottage cheese using oregano essential oils. *LWT - Food Science and Technology*, 60(2, Part 1), 664–671. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.054>
- Bandyopadhyay, P., Ghosh, A. K., & Ghosh, C. (2012). Recent developments on polyphenol–protein interactions: effects on tea and coffee taste, antioxidant properties and the digestive system. *Food & Function*, 3, 592–605. <https://doi.org/10.1039/c2fo00006g>
- Brasil. Mapa. Instrução Normativa N° 04, De 01 De Março De 2004. Altera a Portaria N° 352 De 04/09/1997. Diário Oficial Da União. 2004.
- Chevanan, N., Muthukumarappan, K., Upreti, P., & Metzger, L. E. (2006). Effect of calcium and phosphorus, residual lactose and salt-to-moisture ratio on textural properties of Cheddar cheese during ripening. *Journal of Texture Studies*, 37(6), 711–730. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4603.2006.00080.x>
- Coskun, H., & Tuncturk, Y. (2000). The effect of *Allium sp.* on the extension of lipolysis and proteolysis in Van herby cheese during maturation. *Nahrung*, 44(40), 50–53.
- Delgado, S., Rachid, C. T. C. C., Fernandez, E., Rychlik, T., Alegria, A., Peixoto, R. S.,

- & Mayo, B. (2013). Diversity of thermophilic bacteria in raw, pasteurized and selectively-cultured milk, as assessed by culturing, PCR-DGGE and pyrosequencing. *Food Microbiology*, 36(1), 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.015>
- El-shibiny, S., Gawad, M. a M. A. E.-, Assem, F. M., Seleet, F. L., Shireen, a, Dawood, A., & Elaaser, M. (2013). RTICLES Preparation, composition and microbiological and rheological properties of functional processed cheese supplemented with rice bran., 9(8), 4927–4934.
- Fadavi, A., & Beglaryan, R. (2013). Optimization of UF-Feta cheese preparation, enriched by peppermint extract. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 952–959. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1051-6>
- Faion, A. M., Beal, P., Ril, F. T., Cichoski, A. J., Cansian, R. L., Valduga, A. T., ... Valduga, E. (2015). Influence of the addition of natural antioxidant from mate leaves (*Ilex paraguariensis* St. Hill) on the chemical, microbiological and sensory characteristics of different formulations of Prato cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 52(3), 1516–1524. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1045-4>
- Giroux, H. J., De Grandpré, G., Fustier, P., Champagne, C. P., St-Gelais, D., Lacroix, M., & Britten, M. (2013). Production and characterization of Cheddar-type cheese enriched with green tea extract. *Dairy Science and Technology*, 93(3), 241–254. <https://doi.org/10.1007/s13594-013-0119-4>
- Hala, M. F. E.-D., Ebtisam, I. G., Sanaa, M. A. B., Gad, A. S., & Marwa, M. E.-S. (2010). Manufacture of Low Fat UF-Soft Cheese Supplemented with Rosemary Extract (as Natural Antioxidant). 6 (10), 6(10), 570–579. Recuperado de http://www.jofamericanscience.org/journals/am-sci/am0610/65_3487am0610_570_579.pdf
- Han, J., Britten, M., St-Gelais, D., Champagne, C. P., Fustier, P., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2011a). Effect of polyphenolic ingredients on physical characteristics of cheese. *Food Research International*, 44(1), 494–497. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.026>
- Han, J., Britten, M., St-Gelais, D., Champagne, C. P., Fustier, P., Salmieri, S., & Lacroix, M. (2011b). Polyphenolic compounds as functional ingredients in cheese. *Food Chemistry*, 124(4), 1589–1594. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.021>
- Hasni, I., Bourassa, P., Hamdani, S., Samson, G., Carpentier, R., & Tajmir-Riahi, H.-A.

- (2011). Interaction of milk α - and β -caseins with tea polyphenols. *Food Chemistry*, 126(2), 630–639. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.087>
- Helal, A., Tagliacruzchi, D., Verzelloni, E., & Conte, A. (2015). Gastro-pancreatic release of phenolic compounds incorporated in apolyphenols-enriched cheese-curd. *LWT - Food Science and Technology*, 60(2), 957–963. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.10.037>
- Instituto Adolfo Lutz. (2008) Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. Edição IV, 1º Edição Digital. São Paulo, p.859-860.
- Lamothe, S., Langlois, A., Bazinet, L., Couillard, C., & Britten, M. (2016). Antioxidant activity and nutrient release from polyphenol-enriched cheese in a simulated gastrointestinal environment. *Food Funct.*, 7(3), 1634–1644. <https://doi.org/10.1039/C5FO01287B>
- Lobato-Calleros, C., Ramirez-Santiago, C., Osorio-Santiago, V. J., Vernon-Carter, E. J. Microstructure and texture of Manchego cheeselight products Made with canola oil, lipophilic, and hydrophilic emulsifiers. *Journal of Texture Studies*, v.33, p.165–182, 2002.
- Lucey, J. a, Johnson, M. E., & Horne, D. S. (2003). Invited review: perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. *Journal of dairy science*, 86(9), 2725–2743. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73869-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73869-7)
- Ma, C., Gong, G., Liu, Z., Ma, A., & Chen, Z. (2015). Stimulatory effects of tea supplements on the propagation of *Lactobacillus casei* in milk. *International Dairy Journal*, 43, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.10.003>
- McMahon, D. J., Paulson, B., & Oberg, C. J. (2005). Influence of Calcium, pH, and Moisture on Protein Matrix Structure and Functionality in Direct-Acidified Nonfat Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*, 88(11), 3754–3763. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)73061-7](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)73061-7)
- O’Connell, J. E., & Fox, P. F. (2001). Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. *International Dairy Journal*, 11(3), 103–120. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00033-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00033-4)
- Ong, L., Dagastine, R. R., Kentish, S. E., & Gras, S. L. (2012). The effect of pH at renneting on the microstructure, composition and texture of Cheddar cheese. *Food Research International*, 48(1), 119–130. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2012.02.020>

- Pastorino, A. J., Hansen, C. L., & McMahon, D. J. (2003). Effect of pH on the Chemical Composition and Structure-Function Relationships of Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Science*, *86*(9), 2751–2760. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73871-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73871-5)
- Rashidinejad, A., Birch, E. J., & Everett, D. W. (2016). Effects of (+)-Catechin on the Composition, Phenolic Content and Antioxidant Activity of Full-Fat Cheese during Ripening and Recovery of (+)-Catechin after Simulated In Vitro Digestion. *Antioxidants*, *5*(3), 29. <https://doi.org/10.3390/antiox5030029>
- Rashidinejad, A., Birch, E. J., Sun-Waterhouse, D., & Everett, D. W. (2014). Delivery of green tea catechin and epigallocatechin gallate in liposomes incorporated into low-fat hard cheese. *Food Chemistry*, *156*, 176–183. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.115>
- Robertson, G.L. (2012) Food Packaging: Principles and Practice, Third Edition, CRC Press, N.Y., USA. p. 524
- Silva, N. D; Junqueira, V. C. A.; Silveira, N. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007. 317 p.
- Szczesniak, A. S. (2002). Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, *13*(4), 215–225. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0950-3293\(01\)00039-8](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/S0950-3293(01)00039-8)
- Torri, L., Piochi, M., Marchiani, R., Zeppa, G., Dinnella, C., & Monteleone, E. (2016). A sensory- and consumer-based approach to optimize cheese enrichment with grape skin powders. *Journal of dairy science*, *99*(1), 194–204. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9922>
- Tunick, M. H., Malin, E. L., Smith, P. W., Shieh, J. J., Sullivan, B. C., Mackey, K. L., & Holsinger, V. H. (1993). Proteolysis and Rheology of Low Fat and Full Fat Mozzarella Cheeses Prepared from Homogenized Milk. *Journal of Dairy Science*, *76*(12), 3621–3628. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77703-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77703-6)
- Wegrzyn, T. F., Farr, J. M., Hunter, D. C., Au, J., Wohlers, M. W., Skinner, M. A., ... Sun-Waterhouse, D. (2008). Stability of antioxidants in an apple polyphenol-milk model system. *Food Chemistry*, *109*(2), 310–318. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.034>

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Objetivou-se a elaboração de queijos tipo frescais utilizando leite bubalino orgânico com adição de manjeriço. O leite bubalino foi escolhido por destacar-se cada vez mais no mercado na produção de derivados frente as suas características sensoriais peculiares e alto valor nutricional. O enriquecimento dos queijos com o manjeriço fresco, seco e moído foi proposto devido presença de compostos bioativos com poder antioxidante e antimicrobiano, de maneira que fosse facilmente reproduzível comercialmente.

No capítulo III, objetivou-se estudar a influência da concentração de manjeriço (0; 2,5; 5 e 7,5 g/kg) nas características funcionais dos queijos com até 21 dias de armazenamento embalado e refrigerado. Como o queijo frescal embalado pode ser consumido em até 30 dias após a fabricação e 5 dias após aberto, é importante estudar a perda de nutrientes durante esse tempo de armazenamento embalado. Em queijos elaborados com manjeriço, o teor de polifenóis totais foi de até 0,617 mg EAG/g e o controle de 0,395 mg EAG/g, havendo redução do teor de polifenóis totais com 21 dias de armazenamento em todos os queijos. A atividade antioxidante avaliada através da capacidade em reduzir o Fe(III) e através da transferência de hidrogênio mensurada pelo sequestro dos radicais livres DPPH e ABTS mostram também que os queijos elaborados com manjeriço obtiveram resultados superiores ao controle.

O manjeriço reduziu o crescimento de coliformes totais e *S. aureus* nos queijos com 21 dias de armazenamento. No teste sensorial, as maiores notas foram para os queijos com 2,5 e 5,0 g/kg de manjeriço adicionado. O presente trabalho conseguiu cumprir os objetivos propostos, o manjeriço enriquece os queijos com polifenóis e reduz o crescimento de microrganismos patógenos além de ter boa aceitabilidade do consumidor.

No capítulo IV, objetivando avaliar a influência do manjeriço nas características tecnológicas dos queijos com até 21 dias de armazenamento, constatou-se que o

manjeriço elevou a acidez dos queijos e estimulou o crescimento de bactérias lácticas. Os queijos formulados com manjeriço apresentaram cor mais escura, verde e amarela. Os compostos bioativos presentes no manjeriço (polifenóis e fibras) também alteraram a dureza e a mastigabilidade dos queijos e através de análise de microscopia eletrônica de varredura, pode-se notar que os queijos formulados com manjeriço apresentaram estrutura mais heterogênea, com espaçamentos muito maiores quando comparados com os queijos controle e redes de caseína mais grosseiras. O trabalho também atingiu os objetivos propostos, onde se observou que o manjeriço causa alterações tecnológicas nos queijos, em destaque para aqueles elaborados com 7,5 g/kg de manjeriço.

Para trabalhos futuros, propõe-se o uso de extrato de manjeriço para excluir a interferência da fibra nas características texturais e sensoriais. Como o leite bubalino é rico em sólidos totais, possui caseínas maiores e em maior quantidade que o leite bovino, propõe-se repetir o experimento utilizando leite de outras espécies. Propõe ainda analisar a estabilidade oxidativa dos queijos com 21 dias de armazenamento com e sem manjeriço para constatar a eficácia da atividade antioxidante na conservação do produto.

Universidade Estadual de Maringá

Avaliação sensorial de queijo frescal

Atribua notas para cada característica avaliada, de acordo com o seguinte critério:

- 9 - Gosto extremamente
- 8 - Gosto muito
- 7 - Gosto moderadamente
- 6 - Gosto ligeiramente
- 4 - Me desagrada ligeiramente
- 3 - Me desagrada moderadamente
- 2 - Me desagrada muito
- 1 - Me desagrada extremamente

Amostra	Cor	Aroma	Textura	Sabor	Aceitabilidade geral