

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE FARMÁCIA E BIOQUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE E
DERIVADOS

Cosme Antonio Azarias

**UTILIZAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PARA
DETERMINAÇÃO RÁPIDA DO ÍNDICE DE MATURAÇÃO EM QUEIJOS
PECORINO, MATURADO E GOUDA FABRICADOS COM LEITE DE OVELHA**

Juiz de Fora
2017

Cosme Antonio Azarias

**UTILIZAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PARA
DETERMINAÇÃO RÁPIDA DO ÍNDICE DE MATURAÇÃO EM QUEIJOS
PECORINO, MATURADO E GOUDA FABRICADOS COM LEITE DE OVELHA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação, Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Virgílio de Carvalho dos Anjos

Juiz de Fora
2017

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Antonio Azarias, Cosme.

Utilização da espectroscopia de infravermelho para determinação rápida do índice de maturação em queijos Pecorino, Maturado e Gouda fabricados com leite de ovelha / Cosme Antonio Azarias. -- 2017.

103 p.

Orientador: Virgílio de Carvalho dos Anjos

Coorientadora: Cristina Guimarães Pereira

Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, 2017.

1. maturação. 2. espectroscopia. 3. infravermelho. 4. leite de ovelha. I. de Carvalho dos Anjos, Virgílio, orient. II. Guimarães Pereira, Cristina, coorient. III. Título.

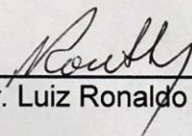
**UTILIZAÇÃO DA ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO PARA
DETERMINAÇÃO RÁPIDA DO ÍNDICE DE MATURAÇÃO EM QUEIJOS PECORINO,
MATURADO E GOUDA FABRICADOS COM LEITE DE OVELHA**

Cosme Antônio Azarias

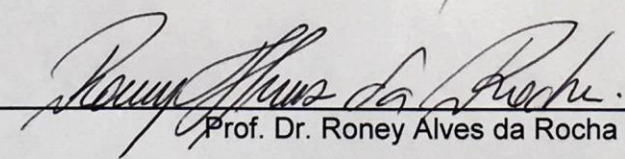
ORIENTADOR: Prof. Dr. Virgílio de Carvalho dos Anjos

Dissertação de Mestrado submetida ao Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

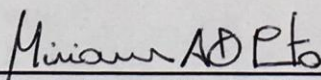
Aprovada em 08/06/2017.



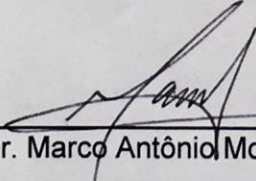
Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu



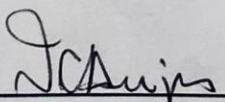
Prof. Dr. Roney Alves da Rocha



Prof.ª Dr.ª Miriam Aparecida de Oliveira Pinto



Prof. Dr. Marco Antônio Moreira Furtado



Prof. Dr. Virgílio de Carvalho dos Anjos

A minha esposa, Sônia de Cassia, aos meus filhos Marcos, Luana, Danielle e ao meu neto
Enrico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, presente comigo em todos os momentos, Universidade Federal de Juiz de Fora, Departamento de Física, Laboratório de Espectroscopia de Materiais (LEM) e como orientador, o prof. Dr. Virgílio Carvalho dos Anjos.

Aos meus pais Vicente Azarias (*In memoriam*) Noêmia Correa, meus irmãos, minha esposa Sônia, meus filhos: Marcos, Luana, Danielle e meu neto Enrico.

Ao amigo de longa data, Dr. José Luiz Romanelli, titular do 1º tabelionato de notas na cidade de Itamonte - Minas Gerais e a todos os seus familiares.

Ao prof. Dr. Virgílio Carvalho dos Anjos, a prof.^a Dra. Maria José Valenzuela Bell e a todos os colaboradores do Grupo de Engenharia e Espectroscopia de Materiais do Departamento de Física da Universidade Federal de Juiz de Fora.

Ao prof. Dr. Marco Antônio Moreira Furtado, e ao proprietário do Laticínios Cabanhas Vida ME, Dauny Araujo Sucasas, que me deram todo apoio para realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) e ao programa de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados (parceria EPAMIG, EMBRAPA e UFJF), pela oportunidade de realização do curso.

À todos meus professores, pelos quais tenho grande admiração respeito e gratidão pelos ensinamentos, que nos dão a certeza de sucesso pessoal e profissional.

À secretaria do Mestrado Profissional de Ciências e Tecnologia do Leite e Derivados.

Aos meus amigos de curso pelo incentivo, troca de experiências e momentos inesquecíveis.

Aos funcionários efetivos e terceirizados da UFJF, EMBRAPA, EPAMIG/Instituto de Laticínios Cândido Tostes.

Assim será a palavra, que sai de Minha boca; e não
retornará para mim vazia antes e realizará o que me apraz,
e cumprirá aquilo para que a envieí.

Isaias 55:11

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo principal a utilização da Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) e Reflectância Total Atenuada (ATR) como uma ferramenta para avaliação rápida e acompanhamento do índice de maturação de queijos Pecorino, Maturado e Gouda, produzidos com leite de ovelha. Foram avaliados os tempos de maturação de 2, 3, 4, 5 e 11 meses (Pecorino), 1, 3, 6, 7, 8 e 12 meses (Maturado) e 2, 3, 5 e 11 meses (Gouda). Determinações de umidade, gordura e proteína foram realizadas nas amostras mais novas de cada queijo para classificá-los segundo a legislação. Em relação aos lipídios, todas as variedades foram classificadas como queijos Gordos. Em relação ao teor de água, as variedades Maturado e Gouda classificaram-se como de média umidade e o Pecorino como baixa umidade. Para cada queijo foram retiradas duas amostras da parte central e feitas medições espectrais em espectrômetro MIR (*Mid-Infrared Spectroscopy*) no intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} . Os espectros foram obtidos em quadruplicata e se caracterizaram por apresentar bandas de absorção na região de 3700 a 1000 cm^{-1} . Para avaliação e acompanhamento do processo de maturação dos queijos foram estudados os picos característicos de grupamento amida (1640 e 1550 cm^{-1}) e picos referentes à presença de lipídeos (2922, 2852 e 1161 cm^{-1}), sendo que, de uma maneira geral, os valores das absorbâncias diminuíram com o passar do tempo de maturação dos queijos. Bandas de energia ao redor dos picos foram processadas utilizando a ferramenta quimiométrica PCA (*Principal Component Analysis*), sendo possível separar os diferentes tempos de maturação e avaliar uma linha temporal em decorrência dos processos de proteólise e lipólise. Pelo comportamento e evolução dos picos obtidos nos espectros pode-se dizer que a tecnologia da espectroscopia infravermelha por transformada de Fourier (FTIR) foi capaz de verificar indicativos da ocorrência dos fenômenos de proteólise e lipólise durante o processo de maturação dos queijos, podendo, portanto, ser considerada uma ferramenta de análise aplicável para detectar alterações moleculares advindas do processo de maturação.

Palavras-chave: maturação, espectroscopia, infravermelho, leite de ovelha.

ABSTRACT

The objective of this work was to explore the utility of Attenuated Total Reflectance and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (ATR-FTIR) techniques as tools for rapid evaluation and monitoring of the maturation index of Pecorino, Ripe and Gouda cheeses produced with ewes' milk. Maturation times of 2, 3, 4, 5 and 11 months (Pecorino), 1, 3, 6, 7, 8 and 12 months (Ripe) and 2, 3, 5 e 11 months (Gouda) have been used. Humidity and fat content analysis were carried out on the newest samples of each cheese to classify them according to the current Brazilian legislation. In relation to lipids, all varieties were classified as fatty cheeses. The water content revealed Ripe and Gouda varieties as "medium moisture" while Pecorino as "low moisture". Protein content was also estimated. Two samples of the central part of each cheese were subjected to spectral evaluations using a MIR spectrometer (*Mid-Infrared Spectroscopy*) in the range of 400 to 4000 cm^{-1} . The spectra were obtained in quadruplicate and revealed absorption bands in the region of 3700 to 1000 cm^{-1} . In order to evaluate the ripening process of the cheeses, typical bands arising from amide (1640 and 1550 cm^{-1}) and lipid (2922, 2852 and 1161 cm^{-1}) groups, were studied. In general, the absorption values decreased with the development of ripening process. The whole bands of the main peaks were processed using the Principal Component Analysis (PCA). It was possible to differentiate the ripening times and to evaluate a timeline among the cheeses. The timeline was related with the IR spectral interpretations, where it could be verified the occurrence of the proteolysis and lipolysis phenomena during ripening process of cheese. Therefore, FTIR/ATR technique is a useful tool to detect molecular changes related to the ripening process.

Key words: ripening, spectroscopy, infrared, ewes' milk.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fluxograma de fabricação do queijo Pecorino no Brasil.	37
Figura 2	Fluxograma de fabricação do queijo Maturado.	39
Figura 3	Fluxograma de fabricação do queijo Gouda.	41
Figura 4	Evolução da proteólise em queijos.	43
Figura 5	Sistema plasmina/plasminogênio no leite.	44
Figura 6	Esquema da extensão e da profundidade da proteólise em queijos.	46
Figura 7	Forma racêmicas do ácido lático.	49
Figura 8	Diferentes tipos de vibrações de deformação. (a) vibração de estiramento simétrico, (b) vibração de estiramento assimétrico, (c) vibração de deformação tipo tesoura (scissoring), (d) vibração de deformação tipo oscilação, rotação, (e) vibração de deformação tipo balanço (<i>wagging</i>), (f) vibração de deformação tipo torção (<i>twisting</i>), (g) vibração de deformação no plano e (h) fora do plano.	56
Figura 9	Regiões espectrais no infravermelho.	58
Figura 10	Espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier.	61
Figura 11	Ilustração do Interferômetro de Michelson e o fenômeno de interferência no anteparo S. M1 é o espelho fixo; M2 é o espelho móvel; e, BS é o divisor de feixes (BS, <i>beamsplitter</i>).	61
Figura 12	Parte interna e caminho óptico do espectrômetro FTIR modelo VERTEX 70.	62
Figura 13	Diagrama esquemático da técnica de reflexão total atenuada apresentando como o feixe incidente infravermelho interage com a amostra através de uma onda evanescente.	66
Figura 14	Espectros característicos de infravermelho médio (3700 a 1000 cm^{-1}), dos diferentes tipos de queijos durante a evolução da maturação. (A) - Pecorino, (B) - Maturado e (C) - Gouda.	77
Figura 15	Região espectral do infravermelho médio (1700 a 1500 cm^{-1}), dos diferentes tipos de queijos e nos diversos tempos de maturação. (A) - Pecorino, (B) - Maturado e (C) - Gouda.	79
Figura 16	Região espectral do infravermelho médio (3000 a 2800 cm^{-1} e 1765 a 1730 cm^{-1}) dos diferentes tipos de queijos e nos diversos tempos de maturação. (A) - Pecorino, (B) - Maturado e (C) - Gouda.	82

Figura 17	Análise de componentes principais dos espectros das amostras de queijo Pecorino. (A) Correlação entre as amostras (<i>scores</i>); (B) Influência dos números de onda (<i>loadings</i>).....	85
Figura 18	Análise de componentes principais dos espectros das amostras de queijo Gouda. (A) Correlação entre as amostras (<i>scores</i>); (B) Influência dos números de onda (<i>loadings</i>).	87
Figura 19	Análise de componentes principais dos espectros das amostras de queijo Maturado. (A) Correlação entre as amostras (<i>scores</i>); (B) Influência dos números de onda (<i>loadings</i>).....	89

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Principais países produtores de leite no ano de 2015.	21
Tabela 2	Principais países produtores de queijos no ano de 2015.....	22
Tabela 3	Características físico-químicas de alguns queijos franceses elaborados com leite cru.	23
Tabela 4	Origem do leite e produção de queijos de denominação de origem protegida (DOP) na Itália.....	24
Tabela 5	Características físico-químicas de alguns queijos espanhóis elaborados com leite cru.	25
Tabela 6	Características físico-químicas de alguns queijos gregos elaborados com leite cru.	26
Tabela 7	Classificação dos queijos segundo suas características.	28
Tabela 8	Classificação dos queijos em relação à umidade.	29
Tabela 9	Queijos elaborados com leite de ovelhas e seus países de origem.	30
Tabela 10	Estimativa da quantidade de leite ovino processado no Brasil e seus principais produtos no ano de 2007.....	31
Tabela 11	Composição físico-química do leite de ovelha, cabra e vaca.	33
Tabela 12	Relação entre resolução instrumental, diferença de caminho óptico e a translação do espelho para o interferômetro de Michelson.	63
Tabela 13	Valores de umidade, proteína total e gordura no extrato seco (GES) dos queijos Pecorino, Maturado e Gouda.....	75
Tabela 14	Porcentagem da variância calculada pela análise de componentes principais utilizando parte dos espectros compreendida nas faixas de número de ondas entre 3000 a 2800 cm^{-1} , 1766 a 1730 cm^{-1} e de 1700 a 1000 cm^{-1}	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABQ	Associação Brasileira de Queijos
AL	Ácido láctico
AOAC	Associação Oficial de Químicos Analíticos
ATR	Reflectância total atenuada
A_w	Atividade de água
BLI	Bactérias lácticas iniciadoras
CLC	Cristais de lactato de cálcio
BS (DF)	Divisor de feixes
DOP	Denominação de origem protegida
DP	Desvio padrão
EST	Extrato seco total
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FTIR	Infravermelho com transformada de Fourier
G	Gordura
GES	Gordura no extrato seco
GT	Gordura total
GOU	Gouda
ICS	Sociedade Internacional de Quimiometria
MEC	Método de Elementos Finitos
MC	Meia Cura
MIR	Infravermelho médio
M/V	Massa volume
NaCl	Cloreto de sódio
NIR	Infravermelho próximo
NNP	Nitrogênio não proteico
NS	Nitrogênio solúvel
NSLAB	Bactérias ácido lácticas não oriundas do fermento
NST	Nitrogênio solúvel total
NT	Nitrogênio total
PCA	Análise de componentes principais
PEC	Pecorino

pH	Potencial hidrogeniônico
SIF	Serviço de Inspeção Federal
SRN	Relação sinal ruído
TAG	Triacilglicerídeo
TAGs	Triacilgliceróis
U	Umidade

LISTA DE SÍMBOLOS

c	Concentração
c	Velocidade da radiação eletromagnética
h	Constante de Planck
l	Caminho óptico
I_0	Intensidade de luz incidente
I_t	Intensidade de luz transmitida
N	Número de varreduras
t	Tempo de análise
Tr	Transmitância
ΔE	<i>Quantum</i> de energia
ε	Absortividade
λ	Comprimento de onda
$\bar{\nu}$	Número de ondas por unidade de comprimento
δ	Retardo óptico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivos gerais.....	19
2.2 Objetivos específicos	19
3 REVISÃO DE LITERATURA	20
3.1 Queijo - Aspectos Gerais	20
3.1.1 Produção de queijos no Brasil e no mundo	20
3.1.1.1 Queijos franceses	22
3.1.1.2 Queijos italianos.....	23
3.1.1.3 Queijos espanhóis	24
3.1.1.4 Queijos gregos	25
3.1.1.5 Queijos brasileiros	26
3.1.2 Classificação.....	27
3.2 Ovinocultura leiteira	29
3.2.1 Leite Ovino.....	31
3.2.2 Queijos de leite de ovelha.....	33
3.2.3 Tipos de queijos de leite de ovinos	35
3.2.3.1 Pecorino	35
3.2.3.2 Pecorino toscano	36
3.2.3.3 Queijo Maturado	37
3.2.3.4 Queijo Gouda	40
3.3 Processo de maturação em queijos	42
3.3.1 Proteólise	42
3.3.1.1 Determinação dos índices de proteólise em queijos.....	45
3.3.2 Lipólise	46
3.3.3 Fermentação da lactose e do citrato	47
3.4 Formação de cristais de lactato de cálcio (CLC).....	48
3.5 Distribuição de sal no queijo	50
3.6 Espectroscopia molecular	53
3.6.1 Aspectos históricos	53
3.6.2 Aspectos gerais.....	54
3.6.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	59
3.6.4 Interferência	59
3.6.5 Interferômetro de Michelson e o infravermelho por transformada de Fourier	60
3.6.6 Espectroscopia por reflexão total atenuada (ATR).....	65
3.7 Quimiometria	66
3.7.1 Análise de Componentes Principais (PCA).....	67
4 MATERIAIS E MÉTODOS	68
4.1 Fabricação dos queijos	68
4.1.1 Queijo Pecorino	68
4.1.2 Queijo Maturado	69
4.1.3 Queijo Gouda.....	69
4.2 Amostras	70
4.2.1 Composição centesimal	70
4.2.1.1 Umidade.....	70
4.2.1.2 Gordura	71

4.2.1.3 Proteína	72
4.3 Espectroscopia no infravermelho médio (FT-IR) (ATR) dos queijos.....	73
4.4 Análise Estatística	73
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
5.1 Caracterização físico química dos queijos.....	75
5.2 Caracterização espectroscópica dos diferentes tipos de queijo	76
5.2.1 Efeitos da maturação no espectro infravermelho nas regiões Amida I e II.....	78
5.2.2 Efeitos da maturação no espectro infravermelho nas regiões de lipídios	81
5.3 Quimiometria - Análise de componentes principais (PCA)	83
6 CONCLUSÕES.....	91
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	92
REFERÊNCIAS	93

1 INTRODUÇÃO

As características físico-químicas e sensoriais de queijos fabricados com leite de vaca e de ovelha podem ser alteradas devido a alguns fatores tais como: sanidade do rebanho, fatores genéticos, ambientais, alimentação e fraudes durante o processo. O controle de qualidade do leite e de seus derivados é de vital importância, e seus métodos precisam ser confiáveis, eficientes e rápidos. Essas características, muitas vezes, não são atendidas pelas metodologias utilizadas atualmente, as quais, além de gerar grandes quantidades de resíduos são muito demoradas, dificultando o monitoramento rotineiro das análises nos entrepostos e na indústria. As análises físico-química realizadas nas indústrias de leite e derivados demandam várias horas de trabalho no laboratório, para determinação de gordura, proteína, lactose, índice de maturação e umidade. Parâmetros estes, recomendados e exigidos pelos órgãos de fiscalização dentro dos estabelecimentos que recebem e processam o leite e seus derivados.

As técnicas instrumentais e ferramentas de calibração multivariada têm sido abundantemente descritas na literatura, com o objetivo de reduzir o tempo de análise e o gasto de reagentes, mantendo a eficiência e a confiabilidade das metodologias convencionais. Dentro deste contexto, a espectroscopia no infravermelho aparece como ferramenta de grande potencial, permitindo o estabelecimento de inúmeras metodologias analíticas orientadas ao controle de qualidade do leite e seus derivados. Além da versatilidade, ela permite a análise de uma grande diversidade de amostras, tem boa precisão, rapidez e segurança, o que favorece a sua utilização na implementação de rotinas de trabalho nas indústrias laticinistas de pequeno, médio e grande porte.

A análise rápida do leite por espectroscopia de infravermelho por absorção estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria, sendo um dos seus principais objetivos a determinação dos níveis de energia de átomos ou moléculas com impacto significativo na indústria de laticínios e é um método aprovado pela AOAC (Associação Oficial de Químicos Analíticos) (WEAVER, 1984). Os espectros fornecem as transições (diferenças de energia entre níveis atômicos ou moleculares) e a partir destas medidas determinam-se as posições relativas dos níveis energéticos. A análise de espectroscopia no infravermelho permite a redução de custo, erros humanos, diminui de forma drástica a quantidade de resíduos gerados, aumenta a frequência de análises permitindo mais segurança ao processo produtivo e mais confiança na qualidade dos produtos acabados.

O principal objetivo do presente trabalho foi propor uma metodologia espectroscópica multivariada que permitisse a determinação do índice analítico de maturação nos queijos Pecorino, Gouda e Maturado produzidos com leite de ovelha.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Desenvolver uma metodologia analítica orientada à análise de queijos utilizando a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier no modo refletância total atenuada, que permita a determinação rápida e acompanhamento do índice de maturação.

2.2 Objetivos específicos

- Utilizar a espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier e reflectância total atenuada como ferramentas para desenvolvimento de uma metodologia para determinação do índice de maturação dos queijos Pecorino, Maturado e Gouda, considerando os índices de proteólise e lipólise;
- Reduzir o tempo de análise e o gasto de reagentes utilizados nos métodos tradicionais mantendo a eficiência e a confiabilidade das metodologias.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Queijo - Aspectos Gerais

O queijo é um alimento antigo e não há qualquer evidência conclusiva indicando onde sua produção teve origem, se foi na Europa, Ásia Central ou Oriente Médio. Acompanhando a expansão do Império Romano pela Europa, o queijo e suas variedades ganhavam território e admiração. Em Roma, aconteceram os primeiros registros de que produtores começaram a utilizar a adição de coalho extraído do quarto estômago de cordeiros ou cabritos, e a descrição da técnica de obtenção do queijo a partir do leite fresco (PIRES, 2013).

A data para a origem do queijo pode variar desde aproximadamente 8000 a. C. (quando as ovelhas foram pela primeira vez domesticadas), até por volta de 3000 a.C. O primeiro queijo pode ter sido feito por pessoas no Oriente Médio ou pelos povos túrquicos e nômades da Ásia Central. Porém, foi na Suíça, pelas pastagens ricas e abundantes, onde a produção deste produto mais se desenvolveu.

Os queijos artesanais são produzidos em diversas regiões do mundo e apresentam grande variedade quanto às suas características físico químicas, reológicas, sensoriais e microbiológicas. Além das propriedades nutricionais importantes, pode ser consumido tanto como prato principal numa refeição ou como ingrediente alimentar (FOX, 1993a).

3.1.1 Produção de queijos no Brasil e no mundo

As características dos queijos produzidos em diversos países dependem de diversos fatores, tais como as condições climáticas, o solo, as pastagens, o nível cultural e social, até mesmo, as políticas econômicas. Evidencia-se que, à medida que o tempo passa, surgem novas descobertas sobre os diferentes sabores e aromas do queijo. Esse produto faz parte das maravilhosas composições que o homem utiliza nas culinárias, sendo um desafio constante para seus apreciadores nas sociedades.

Nas Tabelas 1 e 2 estão presentes os principais países produtores de leite e de queijos, respectivamente, no ano de 2015, segundo dados presentes no Milk Market Observatory - MMO (2016) da European Commission - Agriculture and rural development.

Tabela 1 Principais países produtores de leite no ano de 2015.

País	Produção (milhares de toneladas)
União Europeia	156400
Índia	154000
Estados Unidos	96343
China	37300
Rússia	30350
Brasil	32576
Nova Zelândia	21370
México	12100
Ucrânia	10680
Argentina	10397
Austrália	9200
Canadá	9100
Japão	7420
Belarus (Bielorrússia)	7200
Coreia do Sul	2126
Total	596562

Fonte: Milk Market Observatory - MMO (2016).

Tabela 2 Principais países produtores de queijos no ano de 2015.

País	Produção (milhares de toneladas)
União Europeia	9850
Estados Unidos	5490
Rússia	845
Brasil	745
Argentina	535
Canadá	427
Nova Zelândia	350
Austrália	320
México	285
Belarus (Bielorrússia)	275
Ucrânia	200
Japão	45
Coréia do Sul	24
Total	19391

Fonte: Milk Market Observatory - MMO (2016).

3.1.1.1 Queijos franceses

A França produz cerca de 1.000 variedades de queijos, incluindo aqueles regionais e só encontrados nas regiões onde são produzidos (MENG; DOYLE, 1998). Dentre os queijos artesanais franceses, destaca-se o Roquefort, o qual é produzido com leite de ovelha, tem um rendimento médio de $4,5 \text{ l.kg}^{-1}$ de queijo e é maturado pelo menos três meses em cavernas naturais. Os queijos Camembert e Brie estão entre os queijos artesanais franceses mais produzidos e suas características físico-químicas estão indicadas na Tabela 3. A grande produção de queijos artesanais na França parece resultar da capacidade que os consumidores têm na percepção de diferenças entre os queijos produzidos artesanalmente e aqueles industrializados (MASUI; YAMADA, 1999).

Tabela 3 Características físico-químicas de alguns queijos franceses elaborados com leite cru.

Queijo	Leite	A _w	pH	NaCl (%)	U ^{1/} (%)	NT ^{2/} (%)	NNP ^{3/} (%)	NS ^{4/} (%)
Camembert	Vaca	0,98	5,83	3,99	54,3	4,62	0,72	1,29
Munsier	Vaca	0,97	5,68	4,61	50,03	5,91	0,87	1,43
Beaumont	Vaca	0,99	5,70	2,05	49,9	5,07	ND	1,13
Brie	Vaca	0,98	6,15	3,55	53,3	5,07	0,47	1,13
Roquefort*	Ovelha	0,91	6,03	8,55	42,5	5,60	3,32	2,75
Raclete	Vaca	0,94	6,55	6,11	36,2	10,13	2,82	3,26

Fonte: Marcos et al. (1981).

* Valores médios;

A_w - Atividade de água;

ND = Não disponível;

U^{1/} - umidade;

NT^{2/} - nitrogênio total;

NNP^{3/} - nitrogênio não proteico;

NS^{4/} - nitrogênio solúvel.

3.1.1.2 Queijos italianos

A Itália tem ocupado o segundo lugar na variedade de queijos produzidos na Europa, perdendo somente para a França e algumas dessas variedades são queijos de denominação de origem protegida (DOP) e estão indicados na Tabela 4. Cerca de 45% do leite produzido em território italiano é direcionado para a fabricação de queijos, garantindo-lhe na última década o segundo lugar entre os maiores exportadores mundiais de queijo (FOX, 1993a).

Tabela 4 Origem do leite e produção de queijos de denominação de origem protegida (DOP) na Itália.

Queijo	Tipo de Leite	1996 (t)
Asiago	Pasteurizado	19521
Bra	Cru ou pasteurizado	900
Caciocavallo Silano	ND*	1100
Canestrato Pugliese	ND	60
Castelmagno	ND	40
Fiore Sardo	Cru	800
Fontina	Pasteurizado	4590
Gorgonzola	Pasteurizado	42394
Grana Padano	Cru	131204
Montasio	ND	9691
Pamiggiano-Reggiano	Cru	104896
Pecorino Romano	Cru	35349
Pecorino Sardo	Cru	13000
Pecorino Siciliano	Cru	4000
Pecorino Toscano	Cru	4200
Ragusano	ND	720
Raschera	ND	220

Fonte: Pinto (2004).

* Não disponível.

3.1.1.3 Queijos espanhóis

A Espanha produz mais de 100 variedades de queijos artesanais, muitos dos quais com DOP (denominação de origem protegida) (COLÓQUIO, 2017). Estes queijos frescos ou maturados, de coagulação enzimática, lática ou mista, de diferentes formatos e produzidos com leite de cabra, de ovelha e de cabra ou diferentes misturas, resultam de diferenças ambientais e de costumes tradicionais (PINTO, 2004). Consequentemente, esses queijos apresentam parâmetros físico-químicos bem variados, como pode ser observado na Tabela 5.

Tabela 5 Características físico-químicas de alguns queijos espanhóis elaborados com leite cru.

Queijo	A _w	pH	NaCl %	U ¹ %	G ² %	A.L. ³ %	PT ⁴ %	Referências
Burgo	0,99	5,78	0,72	57,6	23	0,60	16,2	MARCOS et al. (1983)
Cabrales	0,91	5,80	2,56	38,5	36	1,77	22	MARCOS et al. (1983)
Idiazábal	0,94	5,41	2,77	34,0	34,2	1,27	24,9	MARCOS et al. (1983)
Málaga	0,97	5,56	2,30	49,3	24,1	0,62	21,3	MARCOS et al. (1983)
Manchego	0,94	5,64	2,40	34,0	36,8	1,05	24,3	MARCOS et al. (1983)
Roncal	0,94	5,71	2,29	29,8	37,1	1,21	28,4	MARCOS et al. (1983)
San Slmon	0,96	6,06	2,14	41,9	30,4	0,94	23,7	MARCOS et al. (1983)
Tetilla	0,97	5,71	1,74	44,1	31,9	0,87	20,8	MARCOS et al. (1983)
Villalón	0,98	6,30	1,61	55,2	23,5	0,34	17,2	MARCOS et al. (1983)
Majorero	0,96	5,73	0,60	55,0	23,5	ND	18,3	FONTECHA et al, (1990)
Cebreiro	ND	4,29	0,69	54,7	19,0	ND	17,6	LAFUENTE et al. (1995)
Pasiego	ND	5,58	0,40	50,3	22,5	ND	13,8	LAFUENTE et al. (1995)
Afuega'l Pitu	0,99	4,34	0,80	66,0	14,8	ND	11,1	CUESTA et al. (1996)
Afuega'l Pitu	0,99	4,56	1,16	49,0	ND	ND	ND	MARGOLLES et al. (1996)
Beyos	0,98	4,66	1,53	41,0	ND	ND	ND	MARGOLLES et al. (1996)
Armada	ND	ND	1,69	47,4	28,0	ND	32,5	FRESNO et al. (1996)
Penamellera	0,96	5,13	1,64	41,2	ND	ND	ND	MARGOLLES et al. (1996)
Vidiago	0,97	5,29	1,47	45,1	ND	ND	ND	MARGOLLES et al. (1996)
Tenerife	ND	5,00	5,13	ND	ND	ND	ND	ZARATE et al. (1997)
Peñamerella	ND	5,94	1,80	29,3	ND	ND	28,4	ESTERPAR et al. (1999)
Cameros	0,97	5,29	1,47	45,1	ND	ND	ND	OLARTE et al. (1999)
Picon	ND	6,87	3,51	42,8	32,3	ND	20,5	PRIETO et ,al. (1999)
Ahumado Aliva	0,98	5,07	0,69	54,2	25,15	1,74	16,1	FRANCO et al. (2001)
Tetila	ND	5,09	ND	53,9	26,0	ND	19	MENENDES et al. (2001)
Léon	ND	ND	3,07	57,0	30,2	ND	36,2	PRIETO et al. (2002)
Valdeteja	0,98	4,64	0,91	49,5	ND	ND	ND	ALONSO et al. (2002)
Bacia Laciana	0,98	4,43	1,20	51,3	29,7	0,78	31,1	FRANCO et al. (2003)
Caprino	ND	5,60	1,75	42,5	ND	ND	19,0	CARIDI et al. (2003b).
Genestoso	ND	4,30	3,5	ND	ND	ND	ND	ARENAS ET EL. (2003)

Fonte: Pinto (2004).

ND - não disponível; U¹ - umidade; G² - gordura; A.L.³ - ácido láctico e PT⁴ - proteína total.

3.1.1.4 Queijos gregos

Nas regiões montanhosas e semi-montanhosas da Grécia seus habitantes ocupam-se da criação de ovelhas e cabras, sendo o leite desses animais transformados em grande variedade

de produtos lácteos fermentados, entre os quais, diferentes tipos de queijos. A Grécia está entre os países de maior consumo anual *per capita* de queijo do mundo (PRODOMOU, 2001). A variedade Feta, tem maior significado para o país, com uma média de consumo *per capita* anual de aproximadamente 12 kg. É originalmente fabricado com leite de ovelha, ao qual se mistura cerca de 20 a 30% de leite de cabra. É um queijo branco, maturado em salmoura e tradicionalmente fabricado com leite cru, em atividades familiares, empregando-se equipamentos elementares. Atualmente, embora ainda seja produzido de maneira artesanal, a maioria da produção é feita industrialmente com leite pasteurizado e com fermentos lácticos comerciais (MANOLOPOLOU et al., 2003).

As características físico-químicas de alguns queijos gregos estão presentes na Tabela 6.

Tabela 6 Características físico-químicas de alguns queijos gregos elaborados com leite cru.

Queijo	Leite	Dias de maturação	pH	NaCl (%)	U ¹ (%)	Referência
Feta	Mistura	ND	5,00	5,05	54,0	FOX (1993a)
Antothiro	Mistura*	Fresco	6,17	1,46	65,3	KALOGRIDOU-VASSILIADOU et al. (1994)
Pichtogalo	Mistura	ND	4,36	1,02	61,6	PAPAGEORGIU et al. (1998)
Orinotyri	Ovelha	10	6,31	4,13*	49,2	PROMODOU et al. (2001)
Batzos	Cabra	12 (inverno)	5,64	4,53	49,9	PSONI et al. (2003)
Batzos	Cabra	12 (primavera)	5,39	4,55	45,7	PSONI et al. (2003)
Batzos	Cabra	12 (verão)	5,38	4,90	49,0	PSONI et al. (2003)

Fonte: Pinto (2004).

*Cabra + ovelha; U¹ - umidade e ND - não disponível.

3.1.1.5 Queijos brasileiros

No Brasil, as práticas desenvolvidas e a diversidade de queijos produzidos em várias regiões mostram a evolução dos processos de produção, advindos de tecnologia que agrega benefícios aos Laticínios, procurando corrigir os desvios a que se sujeita uma produção de

queijo. Há queijos mais tipicamente brasileiros e há outros inspirados nos conhecimentos queijeiros trazidos ao país por franceses, dinamarqueses, italianos e, mais recentemente, queijos introduzidos por hábitos alimentares ingleses e Norte americanos.

3.1.2 Classificação

A classificação dos queijos (Tabela 7) fornece uma idéia sistemática, permitindo uma indicação de algumas características típicas do processo de fabricação e do produto final. As inúmeras variedades de queijos existentes são devidas às complexas transformações bioquímicas, causando sensíveis variações no sabor, aroma e consistência, em função das microvariações nas condições de maturação e nas características da microbiota existente no queijo (OLIVEIRA, 1996).

Tabela 7 Classificação dos queijos segundo suas características.

Tratamento da massa	Característica da cura, ou consistência (grupo)	Tipo
Massa crua	Sem cura	Minas frescal
	Cura por bactéria	Minas meia-cura
	Cura por mofo	Gorgonzola, Camembert
Massa semi cozida	Cura rápida, (1-2 meses)	Prato, Colby, Gouda
	Cura prolongada (3 meses ou +)	Cheddar
Massa cozida	Sem olhadura	Parmesão, Romano
	Com olhadura	Suíço, Gruyere
Massa filada	Sem cura	Mussarela
	Curado	Provolone
Massa coagulação Ácida	Cremoso	Requeijão, “Cream cheese”
	Frescal	“Cottage cheese”
	Curado	“Queso blanco”
Fundido	Cremoso	Requeijão
	Consistente	Requeijão do Norte
		Queijo Pasteurizado
Proteína de soro	Frescal	Ricota
	Consistente	Ricota curada, “Mysost”

Fonte: Oliveira (1996).

Segundo Brasil (1996), o qual aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos, a seguinte classificação (Tabela 8) pode ser aplicada à todos os queijos em relação a umidade.

Tabela 8 Classificação dos queijos em relação à umidade.

Classificação	Porcentagem de umidade
Queijo de muita alta umidade (massa branda ou "mole")	Não inferior a 55,0%
Queijo de alta umidade (massa branda ou "macios")	Entre 46,0 e 54,9%
Queijo de média umidade (massa semi-dura)	Entre 36,0 e 45,9%
Queijo de baixa umidade (massa dura)	Até 35,9%

Fonte: Brasil (1996).

3.2 Ovinocultura leiteira

A espécie ovina foi a primeira a ser domesticada e desde os primórdios da civilização acompanha o homem proporcionando-lhe diversos benefícios, sendo um deles o uso para a produção de leite e derivados. Porém, ao longo dos anos as ovelhas leiteiras foram substituídas pelo gado leiteiro devido a sua maior produção de leite (FERREIRA, 2007).

Uma importante característica do leite de ovelha é a sua capacidade de transformar-se em queijos de alta qualidade sensorial e nutricional, com excelente rendimento (BENCINI, 2002; MORAND-FEHR et al., 2007). Por esse motivo, diversos países, principalmente na Europa, produzem queijos de leite de ovelha, sendo que muitos são típicos de determinadas regiões e recebem das autoridades da Comunidade Econômica Européia, certificação e proteção da designação por origem ou identificação geográfica, pois algumas características destes produtos não podem ser fielmente reproduzidas em outros locais (SCINTU; PIREDDA, 2007). Na Tabela 9 apresentam-se os nomes de diferentes tipos de queijo elaborados com leite de ovelhas e os respectivos países de origem.

Tabela 9 Queijos elaborados com leite de ovelhas e seus países de origem.

País	Queijos
França	Roquefort, Abbaye de Belloc, Perail
Itália	Canestrato Pugliese, Fiore Sardo, Pecorino Romano/Sardo/Toscano
Inglaterra	Friesla, Olde York
Irlanda	Orla
Espanha	Castellano, Idiazabal, Manchego, Roncal, Zamorano
Portugal	Serra da Estrela
Grécia	Kefaloriti, Myzithra, Feta*
Turquia	Beyaz, Peynir, Mihalic Peynir
República Theca	Abertam
Romênia	Brinza
Bulgária	Katschkawalj
Hungria	Liptoi
Líbia	Al Zahra, Jibnet Grus, Al Naseem

*Fabricados com leite de ovelha ou de vaca.

Fonte: Harbutt (1999).

A produção de ovelhas leiteiras é tradicional na França, especialmente nas áreas montanhosas localizadas ao sul do país. Em 1999 foram produzidos 234 milhões de litros de leite de ovelha, sendo 76% do total na região de Roquefort, onde a raça Lacaune foi a principal raça leiteira utilizada. Na década de 1960, a produção encontrava-se estagnada em torno de 57 milhões de litros e a raça, criada então para dupla aptidão (carne e leite), apresentava baixa produção. Foram desenvolvidos e implementados programas de melhoramento genético e de manejo para toda a população ovina objetivando não só a produção em volume, mas também maiores teores de proteína e gordura. A raça Lacaune, que nos anos 1960 era considerada de dupla aptidão, foi melhorada, sobretudo nas décadas de 1970 a 1990, evoluindo de uma média em torno dos 100 litros por lactação, para médias superiores a 270 litros (BARILLET et al., 2001).

No Brasil a produção de leite de ovelha e o processamento industrial ainda são muito pequenos quando comparado a outros países. O processamento nacional é de aproximadamente 509.000 litros por ano. Tal valor é dividido em três estados do Brasil, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Minas Gerais, como apresentado na Tabela 10, bem como os derivados fabricados a partir desse mesmo leite (ROHENKOHL et al., 2009).

Tabela 10 Estimativa da quantidade de leite ovino processado no Brasil e seus principais produtos no ano de 2007.

Estado	Processamento anual (litros)	Produtos
RS	148.000	Iogurte, ricota, doce de leite, queijos
SC	360.000	Queijos
MG	1.000	Queijos, ricota, iogurtes, chantilly.
Total	509.000	Ricota, queijos, iogurte, doce de leite, chantilly

Fonte: Rohenkohl et al. (2009).

3.2.1 Leite Ovino

De acordo com avaliação de pesquisadores, o rebanho ovino ocupa a quarta posição no ranking mundial, correspondendo um percentual próximo de 1,34% do total produzido por todas as espécies domésticas, com uma produção um pouco acima 10 toneladas de leite (FAOSTAT, 2014).

Esta espécie largamente acostumada a climas variados, estão disseminadas pelos continentes do planeta. Apesar da produção de leite de ovelha ser pequena em comparação ao leite de vaca, existe um interesse muito grande em estimular do consumo de seus derivados (CAMPOS, 2011).

Nas áreas menos beneficiadas do mundo, por seu valor nutritivo, é um alimento de vital importância no sustento familiar. No entanto, a atividade leiteira, de forma industrial ordenada, está reunida nos países mais desenvolvidos do Mediterrâneo com crescimento na Austrália e Israel (MAYER; FIECHTER, 2011).

Internacionalmente, o consumo de leite de ovelha fluido é muito pequeno no entanto é bastante reverenciado por sua utilização em iguarias, sendo utilizado na forma de queijos, iogurtes, sorvetes.

Comparado com o leite de cabra ou vaca, o leite ovino possui melhor rendimento na produção de queijo, devido ao seu alto percentual de sólidos, em função de uma maior proporção de gordura e proteína. Dessa maneira, são necessários 5,5 litros de leite de ovelha para produzir 1 kg de queijo, e 11 litros de leite de vaca na produção de uma mesma quantidade (BRITO et al., 2006; CAMPOS, 2011; CAVALLI et al., 2008).

Sendo assim, são peculiaridades importantes do leite de ovelha, suas quantidades elevadas de proteínas, cálcio, fósforo e lipídeos, parâmetros de qualidade a serem observados (STUBBS et al., 2009).

O leite de ovelha possui composição média de 7,6% de gordura, 5,6% de proteína, 19,0% de sólidos totais, 10,3% de sólidos desengordurados, 4,7% de lactose e 4,6% de caseína; susceptível a variações que são dependentes da: dieta, raça, características individuais, sazonalidade, nutrição, condições de manipulação, condições ambientais e estágio da lactação. A gordura é o constituinte que pode variar mais, entre dois a três pontos percentuais para mais ou para menos, dependendo da dieta ministrada aos animais (HAENLEIN, 2001; NUDDA et al., 2002; PERES, 2001; SEVI et al., 2004; SILVA, 2003; ZAMIRI et al., 2001).

Sua composição de ácidos graxos comprova que aproximadamente 28% destes são insaturados e que a quantidade de colesterol está perto de 290mg/100g de gordura láctea (PARK et al., 2007). O leite de ovelha e de cabra contém elevados níveis de triglicérides de cadeia média, compostos por ácidos graxos com 6 a 8 carbonos na cadeia. Os ácidos graxos caproico (C6:0), caprílico (C8:0) e cáprico (C10:0) (SANZ SAMPELAYO et al., 2007), são os responsáveis pelo sabor e odor característicos desses leites.

Ao estudar e comparar o perfil de ácidos graxos do leite bovino, caprino e ovino, Pellegrini et al. (2012b), perceberam que o leite ovino exhibe teores de ácidos graxos saturados e poli-insaturados mais elevados, tendo os ácidos graxos, linolênico e linoleico conjugado (CLA), como maiores com teores de 1,37% e 1,69%, nesta ordem.

Fica demonstrado que a produção do leite ovino é relevante para o mercado lácteo em relação, principalmente, à produção de leite e derivados (PEETERS et al., 1992).

Considerando a importância da composição no rendimento dos produtos, a avaliação da qualidade do leite deve ser feita no sentido da sua capacidade em ser transformado em queijos e derivados (BENCINI; PULINA, 1997). Na Tabela 11 é mostrada a composição físico-química do leite de ovelha comparada a outros leites.

Tabela 11 Composição físico-química do leite de ovelha, cabra e vaca.

Constituinte	Ovelha	Cabra	Vaca
Matéria seca (%)	17,4 - 18,9	11,9 - 14,0	10,5 - 14,3
Gordura (%)	6,0 - 7,5	4,1 - 4,5	2,8 - 4,8
Energia (kcal)	108	69	61
Proteína total (%)	5,98	3,56	3,29
Albumina globulina (%)	0,9 - 1,1	0,4 - 1,0	0,3 - 0,8
Caseínas (%)	4,3 - 4,6	2,5 - 3,3	2,5 - 3,6
Lactose (%)	4,3 - 4,8	4,1 - 4,4	4,2 - 5,0
Cinzas (%)	0,9	0,8	0,7 - 0,9
Cálcio (mg/100g)	193	134	119
Sódio (mg/100g)	44	50	49
Ferro (mg/100g)	0,10	0,05	0,05
Magnésio (mg/100)	18	14	13
Zinco (mg/100g)	0,57	0,30	0,38
Fósforo (mg/100g)	158	111	93
Vitamina A (mg/l)	0,5	-	0,3
Vitamina B6 (µg/100g)	80	60	60
Vitamina B12 (µg/100g)	0,71	0,07	0,36
Vitamina E (mg/l)	15,8	-	7
Vitamina C (mg/l)	40	-	22

Fonte: Ferreira (2009).

3.2.2 Queijos de leite de ovelha

Os queijos de leite de ovelha surgiram com a interação entre o homem e os animais e representam o pilar da economia de muitas regiões do planeta, incluindo países do mediterrâneo e potências econômicas como França e Itália. Destacam-se famosos queijos produzidos com leite de ovelha como o Roquefort, Pecorino Romano, Pecorino Toscano, Feta e a não menos conhecida Ricota, originalmente elaborada com leite de ovelha.

Na França, de 1970 a 1990, houve uma grande evolução na produção e na produtividade dos rebanhos de ovelhas leiteiras. No início dos anos de 1990, de uma produção

nacional de 181,9 milhões de litros, 70% do leite coletado eram destinados à transformação queijeira (BARILLETE; BOCQUIER, 1993).

Os produtos possuem registro de indicação geográfica e implicam uma elaboração, com características próprias, derivadas do método produtivo do produto lácteo, dos aspectos físico-geográficos e das relações socioculturais do local de criação dos animais.

Portugal detentor de um território menor e um importante produtor de queijos de ovelha, utilizou no ano de 2005 cerca de 2.450.000 litros de leite de ovelha, apenas para a produção de 483 toneladas de queijos com origem controlada (PORTUGAL, 2007). A produção total de leite ovino, no entanto, é bem superior, alcançando 92.000 toneladas em 2008 (SILVA, 2013). A denominação de origem é caracterizada como nome geográfico de país, cidade, região ou localidade de seu território, que designe produto ou serviço cujas qualidades ou características se devam exclusivas ou essencialmente ao meio geográfico, incluídos fatores naturais e humanos ali presentes (SILVA, 2013).

O objetivo da indicação geográfica é transmitir segurança ao consumidor, sobre a estabilidade do padrão de qualidade do produto adquirido. Com o registro público e selos de identificação, dificulta-se a cópia de qualidade distinta ou inferior (SILVA, 2013).

Segundo estatísticas da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), a produção mundial de leite de ovelha foi de 9.262.607 toneladas em 2011, sendo que não consta nestas estatísticas a produção de leite desta espécie no Brasil. Os países do Mediterrâneo são os maiores produtores de leite de ovelha, participando com aproximadamente 48% da produção mundial, porém, praticamente não há consumo deste leite fluído, sendo a maior parte transformada em queijos e, uma pequena parte, em iogurte, sobretudo na Grécia (TALEVSKI et al., 2009).

A fabricação de queijos a partir de leite cru foi permitida a partir da Resolução n° 7, de 28 de novembro de 2000, para o Estado de Minas Gerais (BRASIL, 2000) e pela Portaria Estadual n° 214, de 14 de dezembro de 2010, para o estado do Rio Grande do Sul (RIO GRANDE DO SUL, 2010). A comercialização pode ser realizada após 60 dias de maturação, tempo necessário para diminuir ou eliminar a população de bactérias patogênicas. Os queijos produzidos em pequena escala, a partir de leite cru oriundo das próprias unidades produtivas, e, processados artesanalmente são fonte de renda importante para agricultores. De forma similar, no Rio Grande do Sul, segundo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2006), 19.331 estabelecimentos rurais produzem queijos e desses 3.513 vendem o produto para

intermediários e 7.016 diretamente para o consumidor, demonstrando a importância dessa atividade para a agricultura familiar.

A composição centesimal dos queijos depende principalmente de seu tipo e eles podem ser classificados de acordo com a matéria seca. Como o leite de pequenos ruminantes raramente são padronizados para a fabricação de queijos os conteúdos de gordura e de proteínas desses derivados, varia de acordo com a raça e os sistemas de alimentação das ovelhas (RAYNAL-LJUTOVAC et al., 2008). Os mesmos autores consideraram que a maioria das pesquisas que revelam a composição de queijos espanhóis e italianos não se aplicam aos queijos franceses elaborados com leite de cabra e de ovelha, por serem em sua maioria, de massa fresca ou de alta a média umidade, enquanto os primeiros normalmente passam por maiores períodos de maturação, apresentando massa dura, com menor teor de umidade. Os principais tipos de queijos franceses de leite de ovelha são os queijos de mofo azul, de massa não cozida (Roquefort) ou os queijos prensados (Ossau-Iraty). Vários parâmetros de composição desses queijos não foram ainda mostrados, e não foi dado o devido esclarecimento quanto às suas origens e, principalmente, quanto às raças das ovelhas. Essas variáveis podem explicar diferentes resultados observados pelos autores, assim como a falta de informação sobre o período de maturação dos queijos no momento da análise, que interfere nos resultados dos teores de sólidos.

Em função das propriedades físico-químicas do leite ovino, o queijo proveniente dessa espécie animal apresenta rendimentos maiores, em relação aos queijos de outras espécies produtoras de leite, pois a proporção de gordura, proteínas e sólidos totais são mais elevados. Para se produzir um quilograma de queijo ovino são necessários entre quatro e cinco litros de leite, enquanto que para produzir a mesma quantidade de queijo com leite de vaca, são necessários de dez e doze litros de leite (SILVA, 2013).

3.2.3 Tipos de queijos de leite de ovinos

3.2.3.1 Pecorino

Pecorino é o nome genérico que se dá aos queijos feitos exclusivamente com leite de ovelhas. De origem italiana, tem características específicas dependendo da região e da forma como é produzido (diferentes tamanhos dos grânulos, tempo de maturação, tipo de leite empregado e as misturas de leite).

Trata-se de um queijo com boa capacidade de conservação. Há o Pecorino fresco, o semicurado, o doce e o pepato (com adição de pimenta). A medida que o queijo vai ficando mais curado, é usado para ralar.

Na Itália existem vários tipos de Pecorino, sendo os mais famosos o Pecorino Romano e o Sardo (FURTADO, 2005). Esse queijo possui um flavour particular e picante, que tem sido atribuído à pasta de coagulante de cordeiro, a qual contém várias lipases que liberam ácidos graxos livres durante a maturação do queijo. Esses ácidos graxos livres influenciam direta e indiretamente no sabor e aroma destes queijos (ADDIS et al., 2005).

Segundo a classificação de queijos estabelecida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o queijo Pecorino com 180 dias de maturação pode ser classificado como um queijo gordo e de baixa umidade que possui valores entre 45-59,9% de matéria gorda no extrato seco. E ainda, o teor de umidade e sólidos totais atende ao estabelecido pela Portaria 146 do MAPA, para queijos de baixa umidade (até 35,9%) (BRASIL, 1996). Esses padrões também estão de acordo com o recomendado por Furtado (2005).

3.2.3.2 Pecorino toscano

Da região da Toscana, trata-se de um queijo duro produzido com leite cru de ovelha, que tem forma cilíndrica e pesa entre 1 a 3 kg. A cor da casca varia da cor palha até castanho, podendo chegar ao preto (Pecorino Toscano Crosta Nero). Entre os Pecorinos é o menor e tem maturação mais rápida. Quando fresco o Pecorino Toscano é frutado, aromático, com textura flexível e sabor de nozes e caramelo (QUEIJOS NO BRASIL, 2015).

Esse tipo de queijo pode ser consumido fresco ou maturado. Quando fresco a massa é macia, sabor suave e frutado, aromático e de coloração branca. A textura é fechada com a opção de certa granulação e boa untuosidade. O Pecorino amadurecido (média e longa maturação) apresenta variação de tonalidades (de amarelo palha a um amarelo mais acentuado, tendendo a castanho), textura firme, com certa granulabilidade, sabor mais intenso e salgado (QUEIJOS NO BRASIL, 2015). As etapas do processo de fabricação do queijo Pecorino estão descritas no fluxograma da Figura 1.



Figura 1 Fluxograma de fabricação do queijo Pecorino no Brasil.
Fonte: (Próprio autor).

3.2.3.3 Queijo Maturado

O Queijo Maturado fabricado exclusivamente com leite de ovelha é um produto cujo processo de fabricação foi desenvolvido no Laticínios Cabanhas Vida na cidade de Soledade

de Minas localizada na Serra da Mantiqueira no estado de Minas Gerais. O leite de ovelha da raça Lacaune é o utilizado no processo de fabricação, o qual é produzido na própria fazenda onde está localizada a fábrica de laticínios com capacidade produtiva de 500 litros por dia conforme projeto registrado no Serviço de Inspeção Federal (SIF).

As etapas do processo de fabricação do queijo Maturado estão descritas no fluxograma presente na Figura 2.

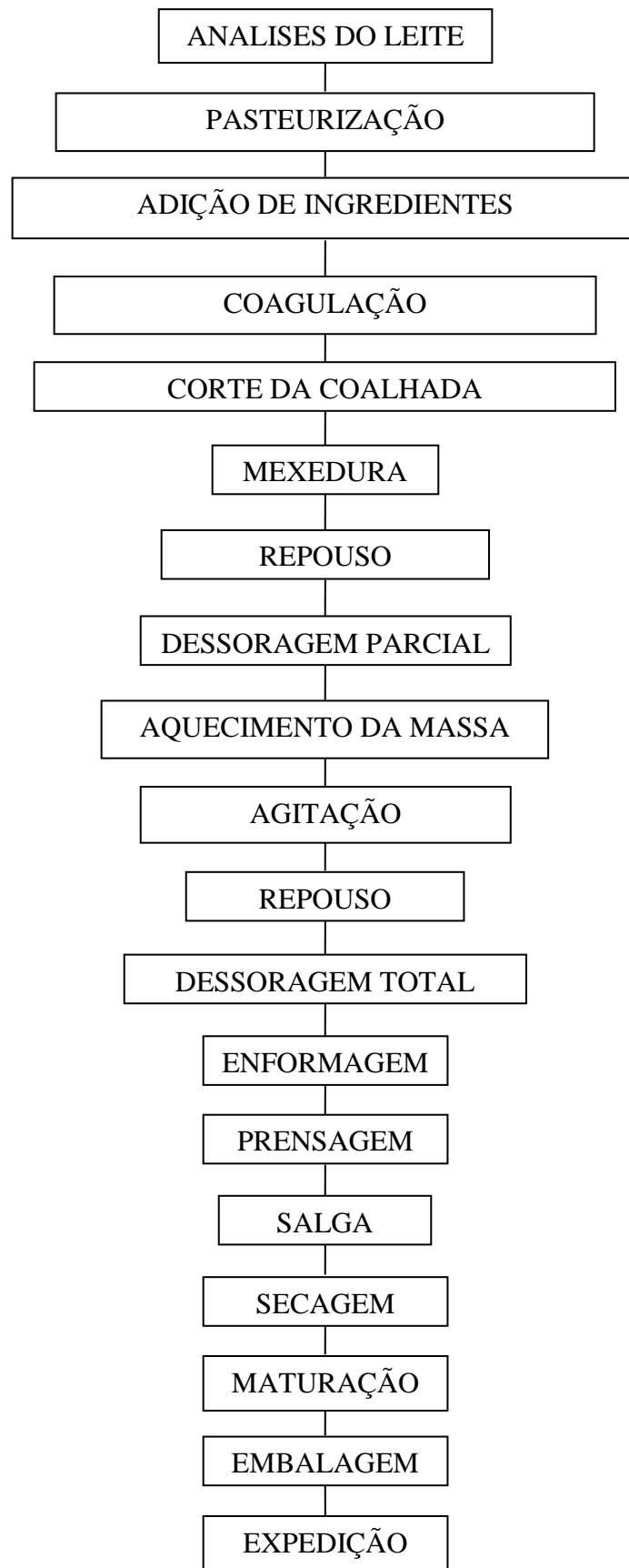


Figura 2 Fluxograma de fabricação do queijo Maturado.
Fonte: (Próprio autor).

3.2.3.4 Queijo Gouda

O queijo Gouda é de origem holandesa, de renome mundial. Trata-se de um queijo de massa semi-cozida, semi-dura, de sabor suave, apresentando diversas olhaduras ovaladas, lisas e regularmente distribuídas. Na Holanda é fabricado geralmente em formas cilíndricas, de peso variado e com diferentes teores de gordura. No Brasil é fabricado em formato cilíndrico com peso ente 2 e 3 kg. Suas características devem ser típicas, como, a untuosidade da massa, olhaduras bem distribuídas e a formação de uma casca bem fina, flexível e de cor amarelada. Ao final da maturação, tanto pode ser tingido com solução alcoólica de magenta ou parafinado (parafina vermelha e micro cristalina). Quando fabricado em peso de cerca de 0,5 kg recebe a denominação de Baby-Gouda (FURTADO; NETO, 1994).

As etapas do processo de fabricação do queijo Gouda estão descritas no fluxograma presente na Figura 3.



Figura 3 Fluxograma de fabricação do queijo Gouda.
Fonte: (Próprio autor).

3.3 Processo de maturação em queijos

O processo de maturação consiste numa série de eventos físicos, bioquímicos e microbiológico que ocorrem nos queijos que precisam de um tempo específico de armazenamento após a fabricação para que seus atributos sensoriais típicos se desenvolvam. O tempo de maturação pode variar de semanas a vários meses, em função do tipo de queijo (UPADHYAY et al., 2004).

Segundo El Soda (1995), o processo de maturação pode se dividir em duas fases: na primeira, as caseínas são convertidas em peptídeos e aminoácidos; os triacilgliceróis são hidrolisados a ácidos graxos; e a lactose é degradada, originando como produto principal de sua fermentação o ácido láctico. Já na segunda fase, os produtos finais resultantes da primeira são convertidos em aminas, ácidos orgânicos, compostos sulfurados e dióxido de carbono a partir dos peptídeos e aminoácidos; cetonas, lactonas, aldeídos, álcoois secundários e dióxido de carbono, a partir dos ácidos graxos; ácidos orgânicos e dióxido de carbono, a partir do ácido láctico.

Dessa maneira, tem-se que os principais eventos ocorridos durante o processo de maturação em queijos são a hidrólise das caseínas (proteólise) e da gordura (lipólise), e a fermentação da lactose. Esses são dependentes da composição do leite, do processo de fabricação, do pH, do teor de sal, da atividade de água, da temperatura de armazenamento, e principalmente, do tipo de fermento presente no queijo (McSWEENEY, 2004a e 2004b; UPADHYAY et al., 2004).

3.3.1 Proteólise

A proteólise, esquematizada na Figura 4, é o fenômeno mais complexo e o mais importante evento bioquímico primário que ocorre durante a maturação para o desenvolvimento do perfil de textura e do flavor do queijo. Essa pode ser definida como a hidrólise das caseínas por meio da ação proteolítica das enzimas presentes no coagulante residual retido na coalhada e das proteinases naturais presentes no leite, o que resulta na produção de grande quantidade de peptídeos de massa molecular elevada e média (primeira fase da proteólise). Esses serão hidrolisados a peptídeos pequenos e aminoácidos pelas proteinases e peptidases do fermento lácteo, das bactérias ácido lácticas não oriundas do fermento (NSLAB) e fontes exógenas (fases posteriores da proteólise) (MCSWEENEY, 2004a e 2004b; UPADHYAY et al., 2004).

A primeira fase da proteólise afeta basicamente a consistência do queijo, que perde a estrutura “borrachenta” e se torna mais macio (MCSWEENEY, 2004a e 2004b; SOUSA et al., 2001).

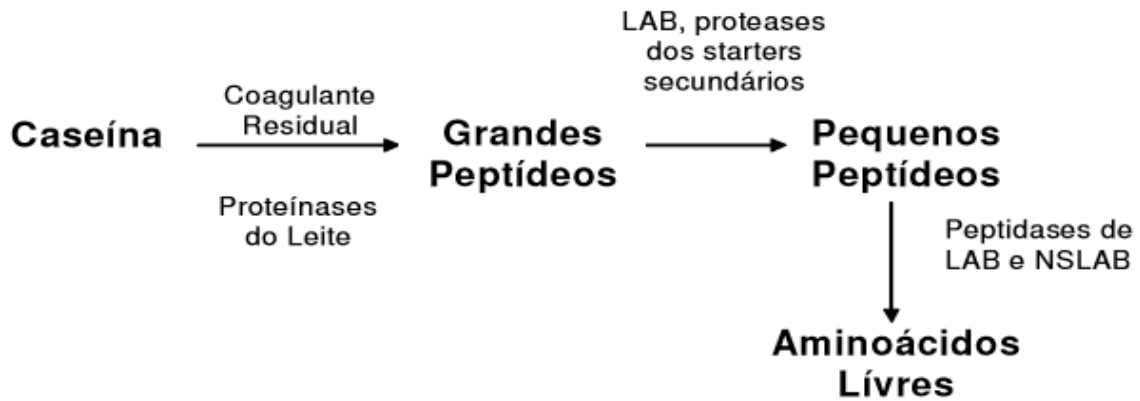


Figura 4 Evolução da proteólise em queijos.

Fonte: Adaptado de McSweeney (2004a).

LAB: Bactérias ácido lácticas

NSLAB: Bactérias ácido lácticas não oriundas do fermento.

A maior parte do coagulante adicionado ao leite é removida com a dessoragem da coalhada. No entanto, até 30% pode ficar retido em função do tipo enzima presente, do pH do soro drenado (menor pH resulta em maior retenção), da temperatura de cozimento da massa (maior temperatura, maior degradação da α 1-caseínas), da variedade e da umidade do queijo (SOUSA et al., 2001). Essa retenção do coagulante caracteriza uma importante fonte de enzimas proteolíticas, que participam da proteólise durante a maturação do queijo (UPADHYAY et al., 2004), uma vez que a quimosina residual hidrolisa a β -caseína (em sete locais, por exemplo, na posição Leu 192-Tyr 193) e a α 1-caseínas (posição Phe 23-Phe 24), formando, respectivamente, peptídeos hidrofóbicos de cadeia curta (amargos) e peptídeos pequenos, que serão hidrolisados pelas enzimas do fermento láctico.

A principal protease natural do leite é a plasmina, uma protease alcalina originária do sangue. Essa é a forma ativa que é produzida a partir do zimógeno denominado plasminogênio, por meio de um sistema de ativadores de plasminogênio e inibidores de plasmina (Figura 5) (MCSWEENEY, 2004a e 2004b; UPADHYAY et al., 2004).

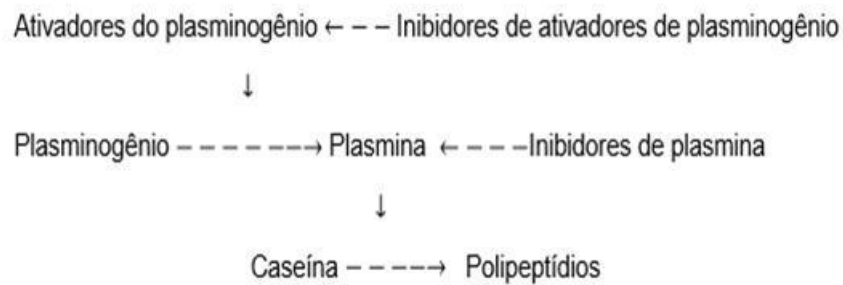


Figura 5 Sistema plasmina/plasminogênio no leite.

Fonte: Adaptado de McSweeney (2004a).

No leite, a plasmina, o plasminogênio e os ativadores de plasminogênio estão sobretudo, associados às micelas de caseína. Os inibidores de plasmina e ativadores de plasminogênio são encontrados no soro, sendo perdidos na dessoragem (MCSWEENEY, 2004a e 2004b; VIEIRA, 2010).

A plasmina possui atividade ótima em pH 7,5 e em temperatura de 37 °C. Sua atividade é maior em queijos de massa cozida (≥ 55 °C) provavelmente, devido à inativação térmica dos inibidores de ativadores de plasminogênio e de plasmina. A ação da plasmina no queijo depende do pH (em menores valores do pH de dessoragem, a plasmina se dissocia da micela de caseína, ficando menos retida na massa do queijo), da concentração de sal, do teor de umidade e da temperatura durante a maturação (MCSWEENEY, 2004a e 2004b; UPADHYAY et al, 2004).

A especificidade da plasmina é restrita a ligações de peptídeos tipo Lys-X, em menor extensão Arg-X, e a mesma degrada as caseínas na ordem β -caseínas, α_2 -caseínas e α_1 -caseínas. A κ -caseína parece ser mais resistente à ação dessa proteinase. No entanto os substratos mais importantes da plasmina são as β -caseínas, as quais são clivadas em três sítios específicos: Lys28-Lys29, Lys105-His106 e Lys107-Glu108, para produzirem γ_1 -caseínas, γ_2 -caseínas, γ_3 -caseínas e proteoses peptonas PP8f, PP8s e PP5. Por isso, uma evidência direta de atuação da plasmina na maturação de queijos é o acúmulo de γ -caseínas (UPADHYAY et al., 2004).

As fases posteriores da proteólise irão contribuir para o refinamento do sabor, aroma e características típicas do queijo e é dependente, sobretudo, da ação das enzimas peptidolíticas da microbiota secundária do queijo, que convertem os aminoácidos e peptídeos à amina, ácidos orgânicos, compostos sulfurados e dióxido de carbono (SOUSA et al., 2001; UPADHYAY et al., 2004).

3.3.1.1 Determinação dos índices de proteólise em queijos

Em 1894, foi citado por Bondzynski os substantivos “extensão” e “profundidade” (Figura 6) para designar os eventos que ocorrem na proteólise do queijo (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989). Atualmente, estes índices são referenciados como relação % de Nitrogênio solúvel (NS) pH4,6/Nitrogênio total (NT) e relação % de nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético (NSTCA)12%/Nitrogênio total (NT), respectivamente.

A relação % de Nitrogênio solúvel (NS) pH4,6/Nitrogênio total (NT) está fundamentalmente relacionada com as proteínas naturais do leite (plasmina) e com o coagulante residual, os quais degradam a proteína em peptídeos de média e alta massas moleculares, ou seja, um indicativo da primeira fase da proteólise (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989).

A relação % de nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético NSTCA12%/Nitrogênio total (NT) está relacionada principalmente com a atividade das endo e exoenzimas da cultura láctica utilizada na fabricação do queijo, e de possíveis contaminantes, que degradam os peptídeos de alta massa molecular a peptídeos de baixa massa molecular, ou seja, está relacionada com as fases posteriores da proteólise. No entanto não há uma divisão precisa onde começa um índice e termina o outro (WOLFSCHOON-POMBO; LIMA, 1989).

O método de Kjeldahl determina o nitrogênio total na amostra. De acordo com a preparação prévia da amostra este método apresenta algumas dificuldades como: (a) longo tempo de análise; (b) dificuldade de separação das proteínas de outros compostos nitrogenados; (c) impossibilidade de adoção de um fator de conversão universal; e (d) obtenção de uma digestão rápida sem perda de nitrogênio (SILVA; CARVALHO, 1993; WALSTRA; JENNESS, 1984).

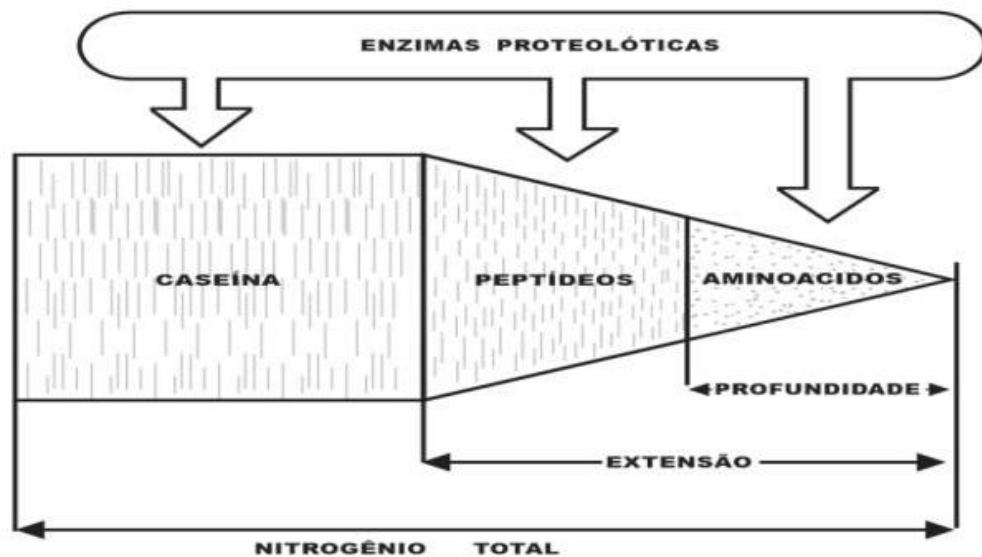


Figura 6 Esquema da extensão e da profundidade da proteólise em queijos.
Fonte: Wolfschoon-Pombo e Lima (1989).

3.3.2 Lipólise

A lipólise ocorre por ação de enzimas lipolíticas, denominadas lipases. Estas podem provir do leite, do coagulante, do fermento láctico, das NSLAB, de micro-organismos acompanhantes e de preparações de lipases exógenas (FOX et al., 2000; MCSWEENEY; SOUZA, 2000). Mais de 90% dessas enzimas se encontram associadas às micelas de caseínas, enquanto os TAGs se encontram envoltos por uma membrana lipoproteica. Caso ocorra algum dano a esta membrana, como por exemplo, devido à agitação, formação de espuma, homogeneização, ordenha inadequada ou técnicas de tratamento do leite, poderá ocorrer a lipólise resultando em um sabor desagradável e atípico no queijo (FOX et al., 2000; MCSWEENEY; SOUZA, 2000).

Cabe salientar que as lipases do leite são extensivamente inativadas pelo processo de pasteurização rápida, fato que justifica sua ação ser mais significativa em queijos fabricados a partir de leite cru (COLLINS; MCSWEENEY; WILKINSON, 2003; FOX et al., 2000).

As lipases de origem microbiana são enzimas intracelulares, com atividade ótima em pH 7,0-8,0, temperatura ótima em torno de 37°C e incluem as do fermento láctico, das bactérias ácido lácticas não oriundas do fermento (NSAB) e micro-organismos acompanhantes (COLLINS; MCSWEENEY; WILKINSON, 2003; FOX et al., 2000).

As lipases das bactérias ácido lácticas (BLI) são pouco lipolíticas, como as dos *Lactococcus* e *Lactobacillus*. No entanto, são responsáveis pela lipólise em queijos com

microbiota essencialmente láctica e feitos com leite pasteurizado, como os queijos holandeses e o Cheddar. Em queijos fabricados com leite cru, elas podem liberar ácidos graxos de cadeia curta derivados de mono ou diglicerídeos produzidos a partir da ação lipolítica de outras lipases, tais como as do leite ou das bactérias ácido lácticas não oriundas do fermento (NSLAB), o que reforça a atuação destas (COLLINS; MCSWEENEY; WILKINSON, 2003; FOX et al., 2000).

As lipases do fermento secundário e de micro-organismos acompanhantes atuantes no processo de lipólise no queijo incluem as das espécies *Brevibacterium linens* e *Geotrichum candidum*, de bactérias propiônicas (*Propionibacterium shermanii* e *P. freudenreichii* subsp. *Freudenreichii*), de bactérias típicas de queijos maturados por mofos (*Penicillium roquefort* e *P. Camembert*) e de psicrotróficos (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Enterobacter*). Esses últimos estão presentes no leite cru refrigerado e apresentam enzimas lipolíticas termoestáveis que atuam de forma significativa nesse processo e quando a concentração desses micro-organismos excede 10 UFC/mL causam rancidez oxidativa. (FOX et al., 2000).

3.3.3 Fermentação da lactose e do citrato

A maior parte da lactose é perdida no soro sob a forma de lactose e/ou lactato. Contudo, ao final do processo de fabricação do queijo, baixos níveis deste açúcar permanecem na coalhada (FOX; MCSWEENEY, 2004).

Em condições normais, a lactose residual é metabolizada rapidamente pelas bactérias lácticas iniciadoras (BLI), o que resulta na produção de ácido láctico, sobretudo sob a forma L-lactato. O completo e rápido metabolismo da mesma é essencial para a qualidade do queijo, uma vez que evita o desenvolvimento de uma microbiota secundária indesejável (desenvolvimento das bactérias ácido lácticas não oriundas do fermento NSLAB) (FOX; MCSWEENEY, 2004). A taxa e a extensão da acidificação tem grande impacto na textura do queijo, em função da desmineralização das micelas de caseína na proteólise (devido ao aumento da susceptibilidade das micelas de caseínas desmineralizadas à proteólise), e, na retenção do coagulante na coalhada (FOX; MCSWEENEY, 2004).

O leite bovino contém cerca de 1.750 mg de citrato por litro, a maioria dos quais se encontra na fase solúvel e, assim, é perdido no soro. Os níveis de citrato na coalhada são aproximadamente três vezes mais elevados do que no soro, sendo provavelmente devido à

concentração de citrato coloidal (FOX; MCSWEENEY, 2004; MCSWEENEY, 2004a e 2004b).

Os produtos oriundos do metabolismo do citrato incluem gás carbônico (CO₂), que é responsável pela formação de olhaduras, e compostos aromáticos (diacetil) que contribuem para o desenvolvimento de sabor característico (FOX; MCSWEENEY, 2004; MCSWEENEY, 2004a e 2004b).

O lactato produzido a partir da lactose pelo crescimento das bactérias lácticas iniciadoras (BLI) é um importante substrato para várias reações que ocorrem no queijo durante a maturação. Os compostos formados devido à sua degradação incluem propionato, acetato, CO₂, H₂O e L(+)-Lactato (FOX; MCSWEENEY, 2004; MCSWEENEY, 2004a e 2004b).

As BLI (depende do tipo de queijo) são representadas pelas espécies mesofílicas: *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*, *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris* e pela espécie termofílica *Lactobacillus helveticus* (FURTADO, 2007; FURTADO, 2008).

As espécies *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris* e *Lactobacillus helveticus* são homofermentadoras (fermentam apenas a lactose) e são capazes de produzir grande quantidade de ácido láctico ou seja, são estritamente acidificantes. A espécie *Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis* produz compostos aromáticos, como a acetoína e o diacetil, a partir da fermentação do ácido cítrico, apesar de algumas cepas fermentarem a lactose. A espécie *Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris* é heterofermentadora, capaz de produzir gás carbônico a partir da fermentação da lactose e do ácido cítrico (FOX; MCSWEENEY, 2004; FURTADO, 2011; MCSWEENEY, 2004a e 2004b).

3.4 Formação de cristais de lactato de cálcio (CLC)

Os cristais de lactato de cálcio (CLC) tendem a tornar o queijo pouco atrativo para os consumidores, uma vez que estes os associam a contaminação por mofos e/ou defeito de fabricação (AGARWAL et al., 2006a, 2006b e 2008; RAJBHANDARI; KINDSTEDT, 2008).

As perdas financeiras provocadas pela presença dos cristais de lactato (CLC) têm aumentado o investimento em pesquisas por partes das indústrias, a fim de reduzir a

ocorrência do problema em queijos duros e semiduros (AGARWAL et al., 2006a, 2006b e 2008; RAJBHANDARI; KINDSTEDT, 2008).

Os cristais de lactato (CLC) são formados, principalmente, a partir do cálcio existente no leite e do lactato, ou de forma mais específica, a partir do lactato de cálcio pentahidratado $[\text{Ca} (\text{CH}_3\text{CHOHCOO})_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}]$ (AGARWAL et al., 2006b e 2008). O cálcio do leite e do queijo está presente sob duas formas: solúvel (dissociado das caseínas) e coloidal ou insolúvel (associado às caseínas). A forma solúvel do cálcio pode rapidamente combinar com o lactato para formar o lactato de cálcio. Quando ocorre a supersaturação do meio aquoso em função da concentração de lactato de cálcio, micro cristais de lactato de cálcio são formados. Estes podem, então, se acumular e formar macro cristais visíveis ao olho nu, que se apresentam como pontos brancos na superfície e em trincas existentes no interior do queijo (AGARWAL et al., 2006b).

A formação de CLC é atribuída a uma série de variáveis, e, não só ao excesso de formação de lactato de cálcio. Dessa maneira, a formação dos CLC ocorre por ação direta dos lactobacilos da cultura láctea iniciadora ou das NSLAB, que convertem o ácido pirúvico a L(+)-ácido láctico (por meio da enzima L-lactato desidrogenase) e/ou D(-)-ácido láctico (por meio da enzima L-lactato desidrogenase), de acordo com sua capacidade de produzir tais formas racêmicas (Figura 7). O ácido láctico reage com o cálcio, formando o lactato de cálcio, que estará também, sob as duas formas. A racemização do lactato é significativa uma vez que a solubilidade do D(-)-Lactato é menor que a do L(+)-Lactato. Logo, a presença daquele favorece a formação dos CLC (MCSWEENEY; FOX, 2004; MCSWEENEY, 2004a e 2004b).

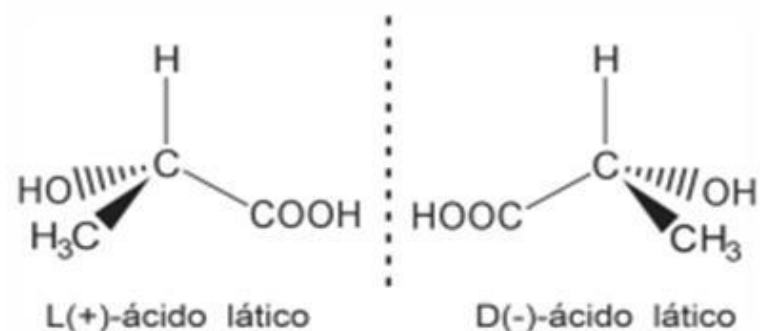


Figura 7 Forma racêmicas do ácido láctico.
Fonte: Adaptado de McSweeney e Fox (2004).

Diversos estudos demonstraram a forte associação entre a formação de CLC e a presença de NSLAB, comprovando que quanto maior o número destas, maior é a probabilidade de ocorrer a formação de cristais devido sua capacidade de formar D(-)Lactato (AGARWAL et al., 2006a, 2006b e 2008; MCSWEENEY; FOX, 2004; MCSWEENEY, 2004a e 2004b; RAJBHANDARI; KINDSTEDT, 2008). Outros fatores também foram associados ao desenvolvimento dos cristais, tais como: a composição do leite, o processo de fabricação, a microbiota, o tipo de embalagem e a temperatura de maturação do queijo. A oscilação da temperatura de maturação também possui forte associação com o aparecimento dos CLC, por permitir o crescimento das NSLAB (AGARWAL et al, 2006a, 2006b e 2008).

3.5 Distribuição de sal no queijo

O cloreto de sódio (NaCl) é comumente empregado no processo de salga em queijos. Esse processo tem como objetivos principais atuar na conservação, contribuir para a melhoria do flavor e da qualidade do produto (FOX et al., 2000; MCSWEENEY, 2007; MORRIS et al., 1985; PAYNE; MORISON, 1999).

A ação conservante do sal se dá por meio da redução da atividade de água (A_w) do queijo, que representa a fração de água livre disponível para o desenvolvimento dos microorganismos. Desta forma, reduzindo-se a A_w , o desenvolvimento de microbiano se torna limitado. Além disso, ele aumenta a pressão osmótica da fase aquosa do queijo, causando a desidratação das células bacterianas, matando-as ou, impedindo o seu crescimento (MCSWEENEY, 2007; PAYNE; MORISON, 1999).

O cloreto de sódio contribui diretamente para o gosto salgado no queijo, que geralmente é desejável no produto, uma vez que um queijo sem sal se apresenta insípido e aguado (MCSWEENEY, 2007). No entanto, a maior contribuição do sal no desenvolvimento de flavor do queijo se dá de forma indireta por meio de sua interferência na atividade microbiana e enzimática, que, por sua vez influenciam no metabolismo da lactose do queijo, no pH, nos fenômenos de proteólise e lipólise, e, conseqüentemente, na formação de compostos aromáticos tais como peptídeos, ácidos aminados e ácidos graxos livres (FOX et al., 2000; FURTADO, 2011; HOFMEISTER et al., 2005; MCSWEENEY, 2007). Outras funções do sal no queijo são contribuir para a complementação da sinérese e formação da casca e para a seleção da microbiota do mesmo (FURTADO, 1991).

Segundo Guinee e Fox (1987), existem três principais formas de salgar o queijo: diretamente na massa, a seco e em salmoura. A salga em salmoura é a mais empregada e consiste em uma solução salina de cloreto de sódio a 20% (m/v), na maioria dos casos, exceto para alguns tipos de queijos ou tecnologias. Ela não deve apresentar teor menor que 16% - 17% (m/v) e nem superior a 20% (m/v), uma vez que o excesso de sal poderá comprometer a qualidade final do queijo (FURTADO, 1991).

Durante o processo de salga em salmoura a casca do queijo funciona como uma membrana semipermeável que permite a ocorrência de dois fluxos importantes: a entrada de cloreto de sódio no queijo por difusão e a perda de água e de alguns sólidos solúveis (ácido láctico, lactose nitrogenado não proteico) presentes naquele, para a salmoura por osmose (FURTADO, 1991; GUINEE; FOX, 1987; HOFMEISTER et al., 2005).

O processo de salga em salmoura geralmente é lento, requer horas ou dias, e é dependente de diversos fatores que afetam a absorção de sal pelo queijo, entre os quais a concentração, a temperatura, o pH e o teor de cálcio da salmoura, e, os teores de umidade, o tamanho, o formato e o tempo de salga do queijo (FURTADO, 1991; MCSWEENEY, 2007; FOX et al, 2000).

Na medida em que o teor de sal na massa aumenta há uma tendência de equilíbrio osmótico, ocorrendo uma redução na velocidade de migração de sal no queijo. Essa redução na velocidade de migração do sal no queijo não está bem clara, mas pode ser devido ao aumento da viscosidade da solução, o que se torna mais um fator de impedimento da difusão de sal nos queijos (GUINEE; FOX, 1987).

De uma forma geral, os queijos devem ser salgados em salmouras com temperaturas entre 10 e 12 °C, a fim de controlar as fermentações e a velocidade da difusão do sal no queijo. O aumento da temperatura da salmoura torna mais rápida a absorção de sal pelo queijo, por modificar o tamanho dos poros da matriz proteica e provocar aumento real da difusão do sal, porém, ocasiona consequências desagradáveis para o queijo, como a exsudação de gordura para a superfície. Em temperaturas muito baixas (abaixo de 7 °C) retardam significativamente o processo de salga (FOX et al., 2000; FURTADO, 1991; GUINEE; FOX, 1987). Deve-se, também, manter o pH da salmoura próximo ao pH do queijo e controlar o teor de cálcio nesta, para evitar possíveis defeitos da casca do queijo (FURTADO, 1991).

Quando o pH da salmoura é muito baixo, ele pode aproximar-se do ponto isoeletrico das caseínas (pH 4,6), levando a uma precipitação de proteínas da casca. Consequentemente,

ocorre um aumento da perda de água pelo queijo e uma diminuição da velocidade de absorção de sal (GUINEE; FOX, 1987).

O fenômeno da difusão que ocorre durante o processo de salga em salmoura, leva ao enriquecimento do queijo em sódio (sob a forma de paracaseinato de sódio) e da salmoura em cálcio (sob a forma de cloreto de cálcio). A salmoura enriquece-se com cálcio até um certo limite, com o decorrer do tempo. Na medida em que aumenta o teor de cálcio da salmoura, o queijo tende a salgar-se mais lentamente e a perder, em termos relativos, mais massa (FURTADO, 1991).

Em relação aos aspectos do queijo relacionados ao processo de salga tem-se que quanto maior o teor de umidade e menor o teor de gordura no extrato seco (GES) maior a absorção de sal pelo queijo (FURTADO, 1991; GUINEE; FOX, 1987). E a taxa de absorção do sal aumenta com o aumento da área superficial, ou seja, para um mesmo tempo de salga, queijos com formato plano absorvem maior quantidade de sal do que queijos com formato esférico (por apresentarem três e duas direções eficazes para a absorção, respectivamente) (FOX et al., 2000; FURTADO, 1991; GUINEE; FOX, 1987; MCSWEENEY, 2007;).

Quanto ao tempo de salga, quanto maior, maior é a quantidade de sal absorvida pelo queijo. Entretanto, esta relação não é linear, ou seja, o aumento da concentração de sal da salmoura não reflete em igual aumento na quantidade de sal absorvida pelo queijo, uma vez que, a maior parte da absorção ocorre nas primeiras horas de salga e reduz gradativamente até que a máxima capacidade de absorção do queijo seja atingida, (FURTADO, 1991; GUINEE; FOX, 1987).

O processo de salga do queijo em salmoura envolve a transferência de calor e de massa e ambos os processos influenciam na qualidade final do produto. Geurts et al., (1974) concluíram que o processo de penetração do sal no queijo e a saída concomitante em sentido oposto da água podem ser descritos como um processo de difusão impedido, isto é, as partículas iônicas de cloreto de sódio e de água movem-se em resposta a seus respectivos gradientes de concentração e essa movimentação é dificultada pela tortuosidade e fricção causados pelos glóbulos de gordura e micelas de caseínas e também pela viscosidade da fase aquosa. Por este motivo, a taxa de difusão do cloreto de sódio no interior do queijo é menor do que em uma solução pura, sendo então denominada coeficiente de pseudo difusão. No entanto, o modelo proposto por Geurts et al. (1974) considera a difusão em apenas uma direção e, em um queijo comercial, no qual a difusão do sal ocorre em todas as direções, esse modelo matemático não pode ser aplicado (GUINEE; FOX, 1983). O Método de Elementos

Finitos (MEF), em modelo tridimensional é empregado, com o auxílio de software, para estudos de transferência de massa e calor, e tem como base a lei de Difusão de Fick.

Dessa forma, comumente, a Lei de Difusão de Fick é adotada para estimar a absorção de sal por um queijo em salmoura e leva em consideração área, volume, concentração de sal na salmoura e tempo de duração da salga (FOX et al, 2000; FURTADO, 1991). Desta maneira é possível calcular o tempo ideal de salga para um queijo ou o coeficiente de difusão de sal no queijo, dentre outros.

Segundo Furtado (2007) e Furtado (2008), a concentração da salmoura utilizada para salgar o queijo tipo Reino situa-se entre 20-22% (m/v) de cloreto de sódio, o tempo de salga varia entre 36 a 48 horas, a uma temperatura de 10-12 °C. Ao fim do período de salga, o queijo é retirado da salmoura e estocado durante determinado período, no qual o sal e a água continuarão a se difundir no interior do mesmo, até que a condição de equilíbrio seja atingida e assim, o sal se encontre distribuído homogeneamente no queijo (FONTAN et al., 2004; GUINEE; FOX, 1987).

O teor médio de sal na maioria dos queijos varia de 0,5 a 2,5%. Em alguns casos, como nos queijos Crioulo e Feta, esses valores podem chegar a atingir de 5 a 8% (aproximadamente 15% de sal dissolvido na umidade). Independentemente do tipo de salga empregado, o sal utilizado deve sempre apresentar boa qualidade físico-química e microbiológica (COSTA, 2004)

3.6 Espectroscopia molecular

3.6.1 Aspectos históricos

Sem um significado etimológico evidente a palavra espectroscopia não resulta apenas do verbo *spectare* que significa observar, olhar. Spectrum que vem do latim e significa fantasma, em combinação com a palavra grega *skopein* que possui o significado de olhar.

Numa sala completamente escura, o cientista Isaac Newton em 1672, percebeu a formação de bandas de tonalidades, depois que de um raio solar entrar por uma pequena abertura e passar por um prisma de vidro. Estas cores se dispersavam além de 25 cm ao se colocar uma lente entre o prisma e a parede. Ao inserir outro prisma no conjunto, averiguou que a dispersão dos dois prismas poderia ser aditiva, e a imagem formada seria maior. Outra possibilidade era aquela em que as dispersões eram opostas. Neste caso, as cores se compatibilizavam e reproduziam a luz branca de novo. No intuito de relatar um jogo de cores

que surgiam e sumiam, o cientista após 6 anos de ter estudado o acontecimento, empregou a palavra, *spectrum* para caracterizar sua observação. Em citação à experiência realizada pelo cientista, os estudos eram referidos, de forma genérica, como espectroscópicos (RODRIGUES, 2012).

No ano de 1814, após um século do experimento realizado por Newton, Willam H. Wollaston (1766-1828), em 1802, e J. Von Fraunhofer (1787-1826) realizaram experimentos análogos utilizando contudo, uma abertura bastante estreita ao invés de um orifício. O cientista William Henry Fox Talbot descreve em 1826, uma série de experimentos com labaredas contendo muitas cores. Posteriormente, J. Hershel (1792-1871) distingue um conjunto de bandas específicas, o qual permite a identificação química de elementos que compõe as chamas. Surge então um procedimento de investigação química baseado nas raias espectrais (RODRIGUES, 2012).

O propósito da espectroscopia no infravermelho, como procedimento de investigação quantitativa, obteve um enorme desenvolvimento com o surgimento da transformada de Fourier e o emprego do interferômetro de Michelson (KALASINSKY, 1990; COATES, 1998), permitindo que o método se tornasse mais rápido e potente. Nas últimas décadas, esse procedimento vem sendo usado para investigação de várias amostras, inclusive polímeros, micro-organismos, sementes, manuscritos, tecidos cancerosos, entre outros (SMITH, 2000). Como forma de ampliação das potencialidades da técnica de absorção, a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e refletância total atenuada (FTIR-ATR), por exemplo, foi utilizada com êxito durante seu emprego para monitoramento da atividade enzimática em superfícies de filmes de amido e triacilgliceróis no infravermelho médio, na faixa de $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ (SNABE; PETERSEN, 2002).

3.6.2 Aspectos gerais

O propósito fundamental da espectroscopia é pesquisar a interação da radiação eletromagnética com a matéria e a definição dos níveis de energia de átomos ou moléculas. Conseqüentemente, os espectros fornecem as transições, podendo-se então, a partir destas medidas, definir os níveis de energia.

A energia total de uma molécula é a soma da energia eletrônica, da energia vibracional e da energia rotacional. Devido ao fato destas três energias serem muito diferentes, é possível separar suas contribuições espectrais (RODRIGUES, 2012).

As energias vibracionais e rotacionais estão ligadas aos movimentos dos núcleos atômicos. Como estes são muito mais pesados que os elétrons, pode-se separar as contribuições eletrônicas e dos núcleos, que é conhecido como aproximação de Born-Oppenheimer. De modo físico, essa separação considera a dessemelhança entre as massas dos elétrons e dos núcleos. Desta forma, o movimento dos núcleos não consegue acompanhar a movimentação dos elétrons. Em outras palavras, em relação aos elétrons, os núcleos podem ser considerados como fixos. Na prática, a aproximação de Born-Oppenheimer resulta no fato experimental que o espectro molecular é separado em três regiões energéticas distintas. São elas, a de micro-ondas e radiofrequências (espectroscopia rotacional); infravermelho (espectroscopia vibracional) e região do visível até o ultravioleta (espectroscopia eletrônica) (RODRIGUES, 2012).

Os átomos que compõem uma molécula, não formam uma estrutura rígida, estão sempre se movimentando mesmo a baixas temperaturas. Em um sólido, mesmo em temperaturas próximas de zero absoluto, os átomos estão num constante vai e vem em torno de uma posição de equilíbrio. Se, num sistema, há N átomos livres, cada um capaz de se movimentar em três dimensões (movimentos na direção x , y , z), o sistema é dito ter $3N$ graus de liberdade. Se os N átomos não estão ligados, pode-se retirar 3 graus de liberdade relativos ao movimento translacional do sistema como um todo. Mais três graus de liberdade podem ser retirados, os quais são relativos a rotação do sistema. Desta forma, resta-se $3N-6$ graus de liberdade. Esses se referem à modos de vibração do sistema. Caso não ocorra alteração, o número de frequências primordiais será $3N-6$. No caso de algum impedimento físico de vibração (vibração não permitida), o número de vibrações será menor. Exceção à essa norma, é o que ocorre em moléculas lineares, onde há 2 graus de liberdade rotacional, pois, se consideramos os núcleos como pontuais, não ocorre rotação no eixo da molécula, havendo, portanto, $3N-5$ graus de liberdade vibracional (COSTA, 2003). Portanto, os graus de liberdade $3N-5$ ou $3N-6$ descritos acima, representam os diferentes modos normais de vibração de uma molécula. Normalmente um modo de vibração é aquele em que cada núcleo realiza uma oscilação harmônica ao redor de sua posição de equilíbrio.

As $(3N-6)$ ou $(3N-5)$ vibrações normais fundamentais que uma molécula pode apresentar pode ser destacada em três tipos principais de vibração, sendo elas:

- Vibração de estiramento: é o movimento de oscilação (deformação axial) ou alongação de um átomo ligado a outro. Essas variações infinitesimais das distâncias internucleares podem ser simétricas (Figura 8a) ou assimétricas (Figura 8b). Na

vibração de estiramento simétrico, os movimentos de dois átomos são simétricos em relação ao átomo central, isto é, os dois átomos distanciam-se ou aproximam-se do átomo central simultaneamente;

- Vibração de deformação no plano: é a vibração em que há alteração/deformação no plano molecular ou deformação dos ângulos de ligação (Figura 8c, 8d e 8g). Podem ser simétricas ou assimétricas;
- Vibração de deformação fora do plano: é a vibração em que há alteração/deformação fora do plano molecular. Nesse tipo de vibração, ocorrem variações infinitesimais de distâncias internucleares ou ângulos de ligações (Figura 8e, 8f e 8h).

Na Figura 8 temos a representação dos diferentes tipos de vibrações de deformação.

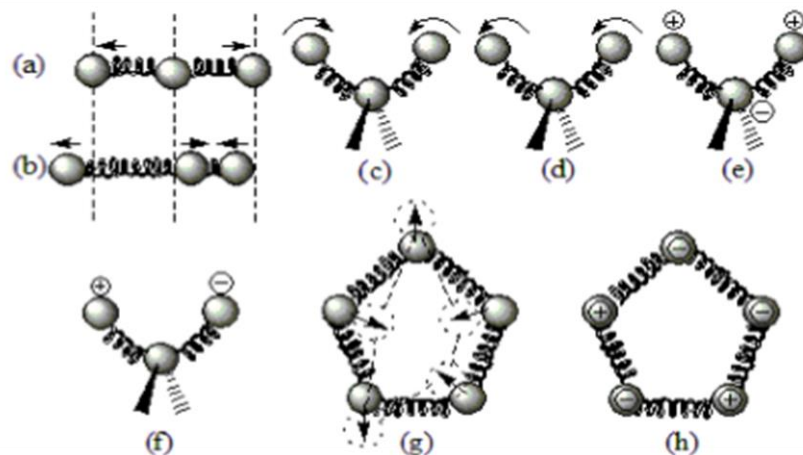


Figura 8 Diferentes tipos de vibrações de deformação. (a) vibração de estiramento simétrico, (b) vibração de estiramento assimétrico, (c) vibração de deformação tipo tesoura (*scissoring*), (d) vibração de deformação tipo oscilação, rotação, (e) vibração de deformação tipo balanço (*wagging*), (f) vibração de deformação tipo torção (*twisting*), (g) vibração de deformação no plano e (h) fora do plano.

Fonte: Bueno (1989).

A radiação eletromagnética no infravermelho, ao interagir com a matéria, pode ser absorvida, se sua frequência corresponder à frequência de vibração natural da molécula que a compõe, aumentando sua energia vibracional. Para que o fenômeno da absorção ocorra, é preciso que a molécula tenha um momento de dipolo elétrico. Por causa desse fato, moléculas diatômicas homonucleares, como O_2 e H_2 , não absorvem radiação na região do infravermelho, por não apresentarem momento dipolo elétrico (centro de carga positiva e centro de carga negativa separados por uma distância l). A quantidade de modos vibracionais

(bandas vibracionais), em um espectro pode ser menor que a prevista na teoria. Isso quer dizer que algumas vibrações podem não estar presentes no espectro de infravermelho, ou então, que pode acontecer uma superposição de vibrações (bandas degeneradas), ou as vibrações são tão fracas que não podem ser observadas (RODRIGUES, 2012).

A luz (espectro eletromagnético) é composta de várias ondas, cuja unidade básica é chamada de comprimento de onda (λ). O número de ondas por unidade de comprimento ($\bar{\nu}$) corresponde à uma frequência. Esta frequência é denominada número de onda, a qual se correlaciona com o comprimento de onda pela equação 1.

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \text{cm}^{-1} \quad (1)$$

Em termos quânticos, as quantidades de energias são descritas relação a uma unidade básica (*quantum* de energia, ΔE). Este *quantum* se relaciona com o comprimento de onda e esta frequência, de acordo com a equação 2.

$$\Delta E = \frac{hc}{\lambda} = hc\bar{\nu}, \quad (2)$$

sendo h a constante de Planck e c a velocidade da radiação eletromagnética. A partir da equação 2, ficou usual em espectroscopia, descrever a energia em termos de frequência ($\bar{\nu}$), cuja dimensão é cm^{-1} . Exemplo $\Delta E = 200\text{cm}^{-1}$.

Dentro do espectro eletromagnético, há três regiões associadas ao infravermelho: infravermelho longínquo (*Far Infrared*), infravermelho médio (*MID Infrared*) e infravermelho próximo (*Near Infrared*). As regiões são mostradas na Figura 9.

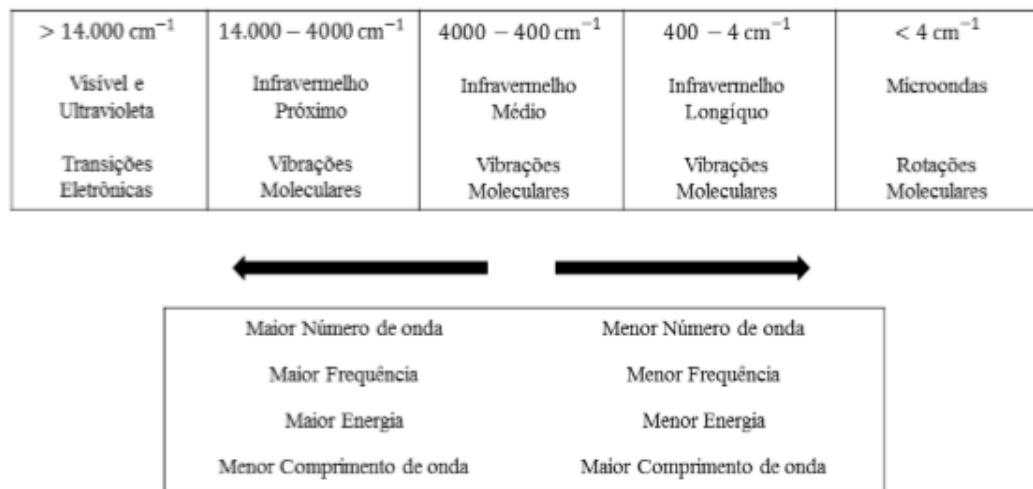


Figura 9 Regiões espectrais no infravermelho.

Fonte: Bueno (1989).

A absorção de radiação infravermelha (IR), depende muito das espécies moleculares. Como já dito, para que haja absorção de IR, uma molécula deve possuir um momento de dipolo elétrico. Somente nestas situações o campo elétrico oscilante da radiação irá interagir com a molécula, ocorrendo oscilações na amplitude de seus modos vibracionais (HOLLER, 2009).

De acordo com Pavia et al. (2012), assim como acontece em outros tipos de absorção de energia, as moléculas ao absorverem radiação no infravermelho passam para um estado de maior energia (estado excitado). Esta absorção se dá de uma forma discreta ou em *quanta* de energia. Na maior parte das moléculas covalentes, este procedimento de absorção corresponde a frequências vibracionais de estiramento e dobramento das ligações.

Ao longo das últimas décadas, métodos espectroscópicos tem sido aplicados concomitantemente com ferramentas estatísticas, para avaliar a qualidade de produtos, entre eles produtos lácteos, como uma alternativa para substituir métodos convencionais. Iñón et al. (2004) estudaram os constituintes fundamentais (carboidratos, lipídeos e proteínas) de diversos tipos de leite, fazendo uso da espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), aplicando-se calibração multivariada para análise quantitativa.

Reid et al. (2005) utilizaram a espectroscopia no infravermelho médio (MIR) para detecção de não conformidade estrutural, com base nas vibrações de vários grupos químicos na região do infravermelho médio no intervalo de 400 cm^{-1} - 4.000 cm^{-1} . A eficácia na análise de alimentos tem sido evidenciada (DOWNEY et al., 1997; IRUDAYARA et al., 2003). No infravermelho médio obtemos dados com frequências e intensidades maiores do que no infravermelho próximo (NIR) (CHUNG et al., 1999). Mesmo que o estabelecimento de um

padrão estatístico ou quimiométrico seja demorado, as análises de infravermelho podem ser realizadas num rápido período de tempo (BRÁS et al., 2005).

Por ser prática e sensível, a técnica de espectroscopia no infravermelho vem tendo sua utilização ampliada na indústria (KALASINKY, 1990). O grande progresso da técnica e o contínuo aprimoramento de metodologias, deve-se à demanda de métodos analíticos rápidos e limpos, evitando-se o emprego de reagentes agressivos, que geram resíduos prejudiciais ao ambiente (FERRÃO, 2004; HELFER et al., 2006; MORGANO, 2005).

3.6.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

As bases da espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), foram estabelecidas no fim do século XIX. O cientista Albert Abraham Michelson construiu um interferômetro e o descreveu em suas publicações, em 1891 e 1892. No ano 1892, Lord Rayleigh confirmou que o interferômetro tinha relação com um espectro por uma operação matemática denominada transformada de Fourier. No entanto a técnica foi pouco usada por mais de cinquenta anos, esperando o avanço dos computadores que deram grande impulso nesse ramo (PERKINS, 1986).

3.6.4 Interferência

No ano de 1802 o cientista Thomas Young observou o fenômeno de interferência, por intermédio de um experimento de luz em fenda dupla, o qual já se tinha conhecimento em experimentos em meios materiais. Com a sobreposição de ondas em diversos pontos ao longo de sua direção de propagação, é gerado um padrão de interferência, que corresponde a regiões em que as ondas se anulam e se amplificam. Esse padrão e sua visualização dependem de uma característica da fonte, denominada coerência. Fontes coerentes produzem um padrão de franjas de interferência. A coerência é uma medida da concordância entre as fases de ondas, ou seja, os vales e cristas das ondas coincidem ao longo do tempo e do espaço (RODRIGUES, 2012).

3.6.5 Interferômetro de Michelson e o infravermelho por transformada de Fourier

Mesmo com os grandes progressos na ciência da instrumentação dos espectrômetros, o planejamento óptico essencial permanece sendo o interferômetro de Michelson. Ele é formado principalmente por dois espelhos planos posicionados perpendicularmente um ao outro, sendo que um deles é fixo (E1) e o outro é móvel (E2), e por um divisor de feixes semitransparente (DF). O divisor de feixes é constituído por um material (filme fino de germânio, por exemplo) colocado sobre uma janela de KBr. No momento que a radiação enviada pela fonte o alcança, 50% da radiação incidente é direcionada para o espelho móvel (E2) e 50% é refletida para o espelho fixo (E1). Os feixes refletidos pelos espelhos, retornam para o divisor (DF), onde ocorre a recombinação das amplitudes das ondas, que sofrem interferência (Figuras 10 e 11). A radiação que surge do divisor de feixes (DF), em direção à amostra, e que segue para o detector é designada radiação transmitida. O deslocamento do espelho E2 produz uma diferença de distância entre os dois braços do interferômetro, denominada retardo óptico (δ), cuja consequência é a formação de um padrão de interferência.

Percebe-se, que movendo o espelho E2 de uma distância x , o retardo óptico será $\delta = 2x$. Isso ocorre, uma vez que a radiação tem que andar uma distância x para atingir o espelho e outra distância x para voltar ao ponto onde o espelho estava antes de se mover (ida e volta) (PERKINS, 1986).

A Figura 10 apresenta os acessórios do espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier e a Figura 11 ilustrada o interferômetro de Michelson e o fenômeno de interferência.

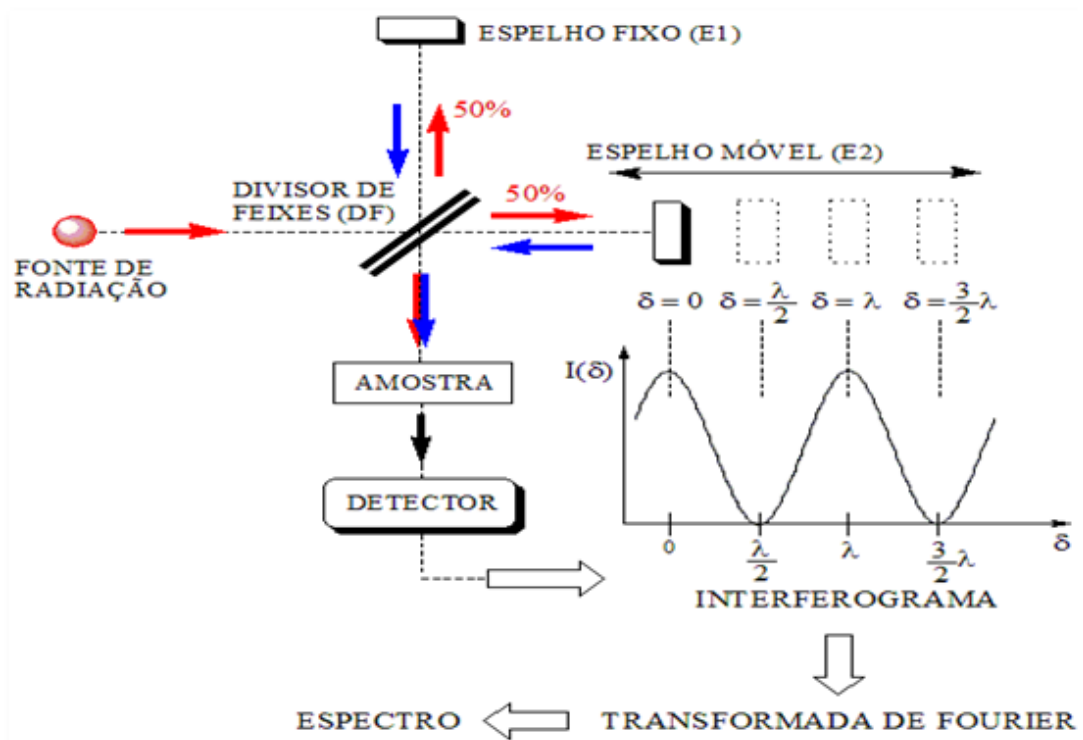


Figura 10 Espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier.
Fonte: Rodrigues (2012).

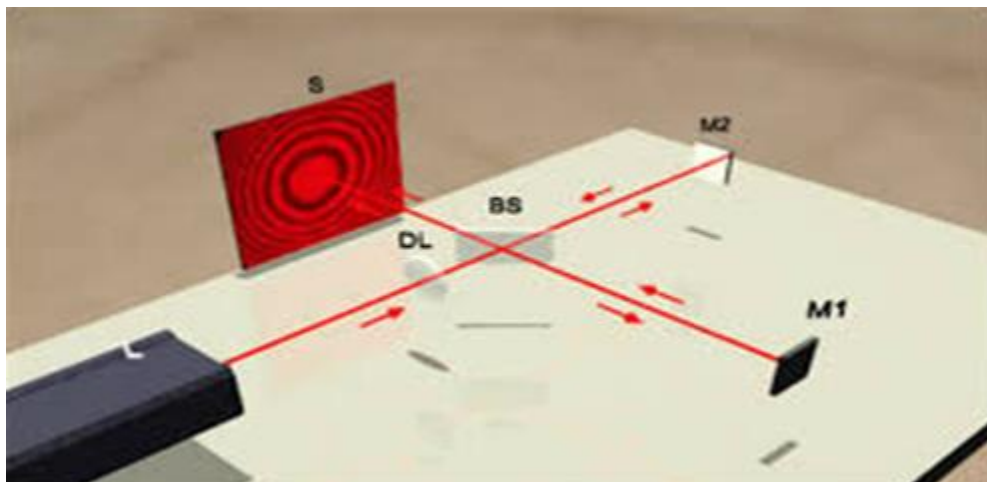


Figura 11 Ilustração do Interferômetro de Michelson e o fenômeno de interferência no anteparo S. M1 é o espelho fixo; M2 é o espelho móvel; e, BS é o divisor de feixes (BS, *beamsplitter*).
Fonte: Rodrigues (2012).

A Figura 12 ilustra a parte interna e o trajeto óptico do instrumento FTIR (Espectrômetro modelo VERTEX 70 da empresa Bruker).

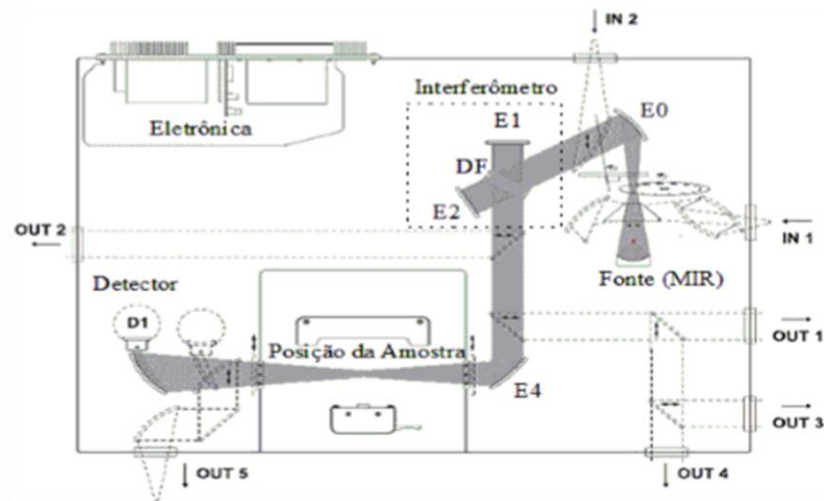


Figura 12 Parte interna e caminho óptico do espectrômetro FTIR modelo VERTEX 70.

Fonte: Rodrigues (2012).

O feixe de luz, composto por uma combinação de duas ou mais cores monocromáticas, oriundo da fonte MIR (infravermelho médio), sofre o processo de colimação por meio do espelho E0 e vai em direção do interferômetro, incidindo sobre o divisor de feixes DF. Após transpor o interferômetro, o feixe está modulado (feixe de intensidade flutuante). A radiação é colimada novamente no divisor de feixes DF e vai em direção ao espelho E4, que coloca em foco o feixe na amostra. Depois de percorrer o compartimento da amostra, a radiação é enviada para o detector. A parte eletrônica agregada ao detector só responde aos sinais que flutuam enviados pela amostra ou uma fonte quente ao redor. A soma das frequências moduladas dá origem ao interferograma, que contém informações espectrais das amostras. Para calibração e alinhamento dos equipamentos, normalmente utiliza-se um laser. De fato, lasers de He-Ne, comprimento de onda de 632,8 nm, potências da ordem de 0,3 a 0,6 mW são usados para quase todos os modelos e marcas. O trabalho do laser é controlar a posição do espelho móvel no decorrer da inspeção. Oscilações no padrão de interferência são utilizadas como forma de calibração interna para a escala espectral de número de onda. A sua precisão é capaz de ser da ordem $0,01 \text{ cm}^{-1}$ (RODRIGUES, 2012).

O espectro conseguido na ausência da amostra será o espectro da respectiva emissão da origem. Normalmente, esse passo (*background*) é executado com a finalidade de eliminar um “fundo” que interfere de forma negativa no espectro formado. O espectro de fundo contém

informação oriundas do equipamento do meio. Maior parcela de influência do meio ambiente se deve à absorção de gases atmosféricos, como vapor d'água e dióxido de carbono (CO₂). A totalidade dos componentes ópticos do equipamento contribuem para o espectro de fundo. A conformação global do espectro de fundo é determinada pelo espectro da fonte, o qual, por sua vez, é definido pela sua temperatura.

A resolução de um espectrômetro é a medida da capacidade do equipamento de diferenciar picos que estão pertos, ou melhor, corresponde à discriminação da menor diferença entre dois números de onda. No decorrer da varredura realizada pelo equipamento, através do movimento do espelho, ocorre a variação da intensidade do interferograma, que é medida pelo detector para a diferença de caminho óptico. Em vários instrumentos, ocorre próximo de cada 0,6 microns. Desta maneira, ocorre uma relação entre a resolução (equação 3) e o retardo óptico (Tabela 12).

$$\text{Resolução} \propto \delta \quad (3)$$

Em que δ é a diferença de caminho óptico máximo por varredura (scan).

Tabela 12 Relação entre resolução instrumental, diferença de caminho óptico e a translação do espelho para o interferômetro de Michelson.

Resolução (cm ⁻¹)	δ (cm)	Translação do espelho (cm)
8	0,125	0,0625
4	0,25	0,125
2	0,5	0,25
1	1	0,5
0,5	2	1

Fonte: Smith (2011).

Teoricamente, pode-se medir com simplicidade espectros com elevada resolução pelo deslocamento complementar do espelho. Resolução infinita não é possível, já que varreduras com elevada resolução propiciam um maior ruído no espectro, como mostrado na equação 4 (RODRIGUES, 2012).

$$SNR \propto \text{Resolução}, \quad (4)$$

onde, SNR é a relação do sinal e do ruído (*Signal-to-noise*). Como o SNR é diretamente proporcional à resolução, uma alta resolução oferece um maior ruído. A escolha dessa resolução depende da amostra em estudo. Sólidos e líquidos podem ter bandas de infravermelho da ordem de 10 cm^{-1} de largura ou mais. Assim, resoluções de 4 cm^{-1} e 8 cm^{-1} poderão e são mais utilizadas. Espectros de amostras gasosas são geralmente realizados com uma resolução de 2 cm^{-1} ou mais alta (RODRIGUES, 2012).

Outros parâmetros devem ser levados em consideração, como o número de varreduras N (*scans*) a se fazer e o tempo de análise t . As relações que definem esses parâmetros estão apresentadas nas equações 5 e 6.

$$SNR \propto N^{1/2} \quad (5)$$

$$t \propto N \quad (6)$$

Portanto, há a relação entre o tempo de análise e a resolução dada pela equação 7.

$$t \propto \text{Resolução} \quad (7)$$

Para cada varredura com alta resolução, há uma diferença maior de caminho óptico em relação a baixa resolução. Necessita-se um tempo maior para mover o espelho e consequentemente, maior tempo para a realização de uma análise. As equações 4 e 7 revelam que através de uma maior resolução surge dois problemas. Varreduras com resolução maior criam mais ruído e demandam mais tempo do que resolução menor. Geralmente alta resolução se adequa para amostras específicas, porém, todas alternativas variam conforme a amostra a ser estudada.

Para realizar as medidas espectroscópicas podemos operar em transmitância ou absorvância utilizando o instrumento FTIR. No caso da Transmitância (Tr) sua definição se dá como sendo a razão entre a intensidade da luz que passa pelo material e a intensidade de luz que incide sobre o material, como apresentado na equação 8.

$$Tr = \frac{I_t}{I_0} \quad (8)$$

A fração de luz a ser absorvida pela amostra é inexistente quando $Tr = 1$ ($I_t = I_0$). Mas, se $Tr < 1$, alguma porção da radiação foi absorvida pelo material. A absorbância de um sistema é dada pela equação 9

$$A = -\log\left(\frac{I_t}{I_0}\right) \quad (9)$$

E a absorbância também é dada em função da concentração das moléculas em uma amostra, relação conhecida como Lei de Lambert-Beer, como apresentado na equação 10.

$$A = -\log(Tr) = \log\left(\frac{I_0}{I_t}\right) = \epsilon I c \quad (10)$$

Em que ϵ é a absortividade, I é o caminho óptico e c é a concentração. A Lei de Lambert-Beer faz referência a uma análise quantitativa de um sistema, em que a atenuação da intensidade da radiação depende da concentração da substância a ser estudada. Para uma solução de concentração c , quanto maior o caminho óptico I , maior a possibilidade de moléculas absorverem a radiação e, portanto, maior é a atenuação da intensidade da luz. A absorbância e a transmitância são relacionadas matematicamente, e é comum o software de um equipamento FTIR fazer a conversão de um para outro. Quando a conversão é feita, apenas há mudança no eixo y, e as posições dos picos não são afetadas. É habitual encontrar na literatura espectros plotados em transmitância ou em absorbância. A porcentagem da transmitância é dada pela equação 11 (RODRIGUES, 2012).

$$(\%)Tr = 100 \times \left(\frac{I_t}{I_0}\right) \quad (11)$$

3.6.6 Espectroscopia por reflexão total atenuada (ATR)

Dentre os métodos de análise que utilizam os equipamentos de espectroscopia denominados espectrofotômetros, que operam com Transformada de Fourier (FT-IR), os que possuem acessórios para espectroscopia de refletância total atenuada (ATR), tem auxiliado o processo de análise de amostras sólidas e líquidas, o que se deve principalmente ao fato deste método resolver alguns problemas dos métodos convencionais de transmissão e absorção,

como por exemplo maior tempo no preparo de amostras e obtenção de espectros pouco reprodutíveis (CETEA INFORMATIVO, 2009).

Na espectroscopia ATR, a amostra sólida ou líquida é posicionada em cima de um cristal opticamente denso com alto índice de refração. Para amostra sólida é necessário pressioná-la de tal modo a proporcionar o máximo de contato. A radiação é produzida e direcionada, a um ângulo específico pelo equipamento, a qual passa através do cristal em direção a amostra, sendo totalmente refletida em sua superfície interna. Desta forma o feixe de luz penetra numa camada fina da superfície da amostra absorvente ($0,5 \mu\text{m} - 5,0 \mu\text{m}$) e sofre perda de energia nos comprimentos de onda em que o material absorve (Figura 13). A intensidade da radiação é atenuada devido as múltiplas reflexões ao longo do comprimento da amostra, ou seja, refletância total atenuada e um espectro de superfície é produzido (CETEA INFORMATIVO, 2009).

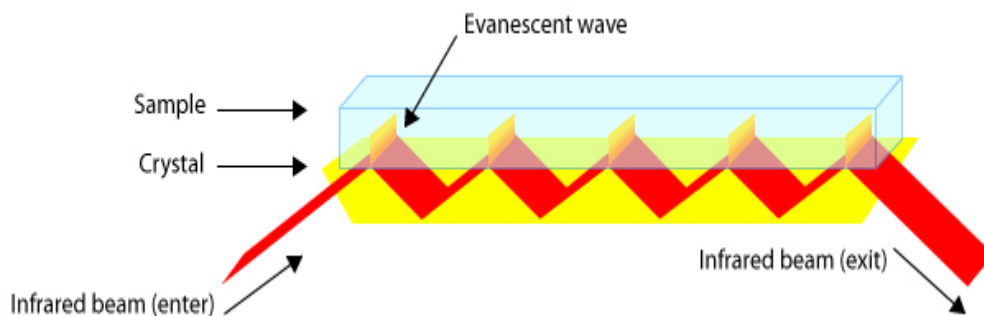


Figura 13 Diagrama esquemático da técnica de reflexão total atenuada apresentando como o feixe incidente infravermelho interage com a amostra através de uma onda evanescente.

Fonte: (<http://www.chromacademy.com/>)

3.7 Quimiometria

De acordo com a definição da ICS (*International Chemometrics Society*), a quimiometria é a disciplina química que emprega métodos matemáticos e estatísticos para planejar ou selecionar experimentos de forma otimizada e para extrair o máximo de informação a partir da análise dos dados multivariados. O crescimento e desenvolvimento da quimiometria estão intimamente relacionados com o desenvolvimento e a popularização dos microprocessadores, nas décadas de 1970 e 1980, resultando em equipamentos analíticos que permitiram a aquisição de uma grande quantidade de informação sobre uma amostra em

pouquíssimo tempo, como, por exemplo, espectros de UV/Visível, de NIR e MIR, e até dados mais complexos, como superfícies de fluorescência (BOTELLO, 2014).

Desde a sua criação, a calibração multivariada sobrepujou os limites da estatística convencional univariada, utilizando métodos derivados da matemática, estatística e ciência da computação. É uma área caracterizada pela constante evolução e atualização (GELADI, 2002), e que sofreu grande evolução na década de 1980, iniciando o uso de metodologias aplicadas em modelos com dados experimentais (DEMING; MORGAN, 1993; LEWIS; MATHIEU; PHAN-TAN-LUU, 1998; MEYERS; MONTGOMERY, 1995; MORGAN, 1991).

A utilização da calibração multivariada em Química Analítica Instrumental conduziu ao uso analítico com aplicação industrial. Desta forma, a Quimiometria se expandiu e se estabeleceu como área independente. No início houve uma ênfase maior na aplicação de técnicas de discriminação de dados (GELADI, 2003), como por exemplo, a análise de componentes principais (PCA), a qual tem a função de reduzir a dimensionalidade do espaço, revelando as variáveis ou combinações de variáveis com características inerentes aos dados originais, permitindo a interpretação em termos químicos ou físico-químicos (GELADI, 1987; WOLD; ESBENSEN; MASSART, 1988).

3.7.1 Análise de Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) é um método de discriminação de dados que tem por objetivo reduzir sua dimensionalidade, com possibilidade de utilização das informações, com ou sem pré-processamento, para fazer uma verificação inicial de sua homogeneidade. O processamento de PCA mais comum é a projeção linear que maximiza a variância projetada no espaço (MARTENS; NAES, 1989; WANG; PALIWAL, 2003).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os queijos Pecorino, Maturado e Gouda foram fabricados no Laticínios Cabanhas Vida ME localizado no município de Soledade de Minas, Minas Gerais, Brasil, registrado no Serviço de Inspeção Federal (SIF).

4.1 Fabricação dos queijos

O leite cru integral proveniente da Fazenda Vida, utilizado para a fabricação dos queijos foi pasteurizado a 65 °C/30 minutos e resfriado na temperatura 32 °C. Para cada 100 litros de leite foram adicionados o coagulante quimosina (6 ml), 10 ml de solução de cloreto de cálcio 50% p/v e 1 g de fermento láctico com suas características de acordo com cada tipo de queijo. No queijo Pecorino foi utilizado o *Lactobacillus helveticus* e o *Streptococcus thermophilus*, no queijo Gouda o *Lactobacillus helveticus*, *Streptococcus thermophilus* e *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* e no queijo Maturado o *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*.

4.1.1 Queijo Pecorino

O leite foi pasteurizado, resfriado e em seguida foram adicionados os ingredientes. Após a coagulação, a coalhada foi cortada em cubos de 0,5 cm de aresta e iniciou-se agitação lenta seguida de aquecimento indireto até a temperatura de 45 °C num tempo de 20 minutos. Em seguida foi dado um repouso de 7 minutos, foi retirado 30% v/v de soro e a massa foi colocada em formas plásticas de polietileno de 3,5 kg com dessoradores e prensada a temperatura ambiente em prensa vertical, com peso de aço inox. Foram realizadas as seguintes viragens: a primeira após 20 minutos de enformagem, a segunda após 1 hora e 30 minutos e a última viragem com retirada dos dessoradores e prensagem final de 5 minutos. Ao saírem da prensa, os queijos foram colocados em salmoura 20% p/v de cloreto de sódio por 10 horas. Após esse período foram retirados e colocados na câmara de secagem e maturação a temperatura de 7 °C.

4.1.2 Queijo Maturado

O leite foi pasteurizado, resfriado e em seguida foram adicionados os ingredientes. Após a coagulação, a coalhada foi cortada em cubos de 1 cm de aresta e iniciou-se agitação lenta por cerca de 10 minutos. Em seguida foi dado um repouso de 7 minutos, foi retirado 10% v/v de soro e substituído pela adição de 10% v/v de água a 75°C, seguido de agitação até atingir a temperatura de 40 °C. Foi realizado outro repouso de 7 minutos, retirado 40% v/v de soro e a massa foi colocada em formas plásticas de polietileno de 3,5 kg com dessoradores e prensada a temperatura ambiente em prensa vertical, com pesos de aço inox. Foram realizadas as seguintes viragens: a primeira após 20 minutos de enformagem, a segunda após 1 hora e 30 minutos e a última viragem com retirada dos dessoradores e prensagem final de 5 minutos. Ao saírem da prensa, os queijos foram colocados em salmoura 20% v/v de cloreto de sódio por 10 horas. Após este período foram retirados e colocados na câmara de secagem e maturação na temperatura de 12 °C.

4.1.3 Queijo Gouda

O leite foi pasteurizado, resfriado e em seguida foram adicionados os ingredientes. Após a coagulação, a coalhada foi cortada em cubos de 0,5 cm de aresta e iniciou-se agitação lenta por cerca de 10 minutos. Em seguida foi dado um repouso de 7 minutos, foi retirado 40% v/v de soro e substituído pela adição de 40% v/v de água a 75 °C seguido de agitação até atingir a temperatura de 45 °C. Foi realizado outro repouso de 7 minutos, retirado 40% v/v de soro e a massa foi colocada em formas plásticas de polietileno de 3,5 kg com dessoradores e prensada a temperatura ambiente em prensas verticais, com pesos de aço inox. Foram realizadas as seguintes viragens: a primeira após 20 minutos de enformagem, a segunda após 1 hora e 30 minutos e última viragem com retirada dos dessoradores e prensagem final de 5 minutos.

Ao saírem da prensa, os queijos foram colocados em salmoura 20% p/v de cloreto de sódio por 10 horas. Após esse período, os queijos foram retirados e colocados na câmara de secagem e maturação a temperatura de 7 °C.

4.2 Amostras

Todas as amostras em estudo foram acondicionadas em recipientes isotérmicos, transportados e armazenadas a 5 °C até início das análises, as quais foram realizadas no Laboratório de Espectroscopia de Materiais do Departamento de Física no Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Juiz de Fora e no Laboratório de Análise de Alimentos e Águas do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora.

4.2.1 Composição centesimal

As composições percentuais das amostras dos diferentes queijos estudados foram conduzidas em termos de umidade, gordura e proteína. As medições foram realizadas nos queijos e as amostras foram preparadas segundo Instituto Adolfo Lutz (2004) e Brasil (2006), o qual estabelece os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos.

4.2.1.1 Umidade

Teores percentuais de umidade foram obtidos por método gravimétrico em estufa a 105 °C (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2004). Inicialmente foi pesado, em cápsula de alumínio, 10 g de areia purificada. Colocou-se um bastão de vidro (aproximadamente 5 cm) dentro de cada cápsula. O conjunto foi deixado em estufa a 105 °C por uma hora. Posteriormente as cápsulas foram transferidas para um dessecador, até ocorrência de seu resfriamento.

A pesagem das amostras de queijos para procedimento da determinação da umidade foi realizada primeiramente pesando-se o conjunto cápsula com areia e bastão vindo do dessecador. Posteriormente a balança foi tarada e acrescentou-se na capsula cerca de 3 g de amostra de queijo previamente triturada. Procedeu-se com a mistura do queijo e areia até completa homogeneização e o conjunto foi colocado em estufa a 105 °C por quatro horas (até peso constante). Posteriormente, as cápsulas foram transferidas para dessecador, onde permaneceram em torno de meia hora. Repetir essa operação até que a diferença entre duas pesagens sucessivas seja inferior a 0,5 mg. Na sequência, o conjunto foi pesado e

procedeu-se com os cálculos para determinação da umidade como apresentado na equação 12. As análises foram realizadas em duplicata.

$$U (\%) = \frac{(\text{Peso da cápsula com amostra})(g) - (\text{Peso após secagem})(g)}{\text{Peso da amostra (g)}} \times 100 \quad (12)$$

onde U é a porcentagem de umidade presente na amostra.

4.2.1.2 Gordura

A determinação do teor percentual de gordura total dos queijos foi realizada no butirômetro de Van Gulik utilizando-se a metodologia preconizada por Instituto Adolfo Lutz (2004). Amostras de 3g de queijo previamente trituradas foram pesadas no copinho do butirômetro. Adicionou-se 5 mL de água destilada entre 60 e 70 °C. Transferiu-se lentamente para o butirômetro, 10 mL de ácido sulfúrico. O conjunto foi agitado até completa dissolução do analito. Adicionou-se 1 mL de álcool amílico e completou-se o volume com água destilada quente até atingir a marcação 30 do butirômetro. Procedeu-se com vigorosa agitação e posterior centrifugação por 5 minutos em centrífuga de Gerber. Na sequência foi realizada a leitura do teor de gordura total presente nos queijos, na escala do butirômetro. As análises foram realizadas em duplicata e o teor de gordura no extrato seco foi calculado segundo as equações 13 e 14.

$$GES (\%) = \frac{GT (\%)}{EST (\%)} \times 100 \quad (13)$$

$$EST (\%) = 100 - U (\%) \quad (14)$$

Sendo:

GES - Gordura no extrato seco (%);

GT - Gordura total (%);

EST - Extrato seco total (%);

U - Umidade (%).

4.2.1.3 Proteína

O analisador rápido de proteínas Sprint (CEM Corp., Matthews, NC) foi utilizado. A análise é inteiramente automatizada e o único requerimento para o operador do aparelho é adicionar a quantidade de amostra de queijo no recipiente específico para a análise. Sprint se baseia no método denominado “*Dye-binding*”, onde o excesso de corante é adicionado à reação com a amostra do alimento. O corante utilizado (Orange G – denominado iTAG, sob patente de CEM Corporation) possui grupos acídicos SO_3^{-2} que se ligam a sítios básicos dos aminoácidos histidina, arginina e lisina. O iTAG, possui duas partes características, uma aromática e o grupo acídico. A parte aromática, de cor laranja, detém forte características de absorção na região visível enquanto a porção acídica é responsável pela ligação com os aminoácidos das macromoléculas proteicas. O pH da solução corante é muito abaixo do ponto isoelétrico das proteínas do alimento, causando a solubilização proteica e adição de cargas positivas nos grupamentos básicos dos aminoácidos em questão. Ocorre, portanto, uma reação onde um complexo insolúvel corante-proteína é formado. O precipitado é removido por filtração simples. A absorbância do corante inicial é reduzida, pois parte do corante foi removida com a filtração do precipitado. Um espectrofotômetro acoplado internamente ao analisador faz a medição e correlação com o conteúdo real proteico da amostra. Todo o resíduo gerado, bem como as soluções utilizadas na limpeza do aparelho é, por fim, descartada no copo da amostra. A CEM Corporation certifica que o resíduo é biodegradável e não poluente.

No procedimento experimental, os queijos foram inicialmente processados (moídos) ao seu menor tamanho possível com um processador de alimentos. Em seguida, cerca de 0,5 g de amostra foi adicionada ao copo do analisador e submetida a análise. O aparelho mediu as propriedades ópticas do corante antes da reação com os queijos e o adicionou em excesso. Em seguida, a mistura amostra-corante foi homogeneizada com um ultra turrax acoplado ao Sprint. Uma bomba fez a sucção do analito, que passou por um filtro e em seguida foi analisado novamente pelo espectrofotômetro do aparelho. Um algoritmo específico para o tipo de amostra fez as correlações entre o valor obtido de diminuição da absorbância e o conteúdo proteico real da amostra. O protocolo padrão para análise de proteína real para queijo tipo “Cheddar” foi utilizado, como descrito no manual do aparelho.

4.3 Espectroscopia no infravermelho médio (FT-IR) (ATR) dos queijos

Para avaliação da espectroscopia, amostras dos queijos foram retiradas da geladeira e cortadas com 2 cm x 2 cm para cobrir o cristal e espessura de 1 cm para que a amostra fique bem pressionada, evitando interferências externas e danifique o cristal. As amostras foram retiradas da parte central dos queijos e dois pedaços foram analisados. Uma amostra por vez foi levada até a sala de espectroscopia, onde se esperou 5 minutos para o início das leituras. O procedimento foi padronizado para todos os queijos, com intuito de se evitar erros experimentais.

A espectroscopia por infravermelho foi realizada em um espectrômetro MIR (Modelo Espectro VERTEX 70) marca Bruker, com acessório ATR e Software OPUS 6.5. As medidas foram realizadas em absorbância com resolução de 4 cm^{-1} e varredura de 32 scans (indica quantas vezes o infravermelho incide na amostra e faz uma média) no intervalo de 400 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} . Os dados foram analisados nos softwares Excel, OriginPro 8.0 e Minitab. As medidas foram realizadas em quadruplicata.

4.4 Análise Estatística

Os espectros dos diferentes tipos de queijos e seus respectivos tempos de maturação foram convertidos em arquivos de texto utilizando o software OPUS 6.5.97. As absorbâncias obtidas na faixa de número de ondas compreendida entre 3000 a 2800 cm^{-1} e 1766 a 1730 cm^{-1} e de 1700 a 1000 cm^{-1} foram submetidas a cálculos de análise de componentes principais (PCA) utilizando o software MINITAB 16. A análise de componentes principais utiliza dados em forma de matriz onde as linhas correspondem aos espectros das amostras e as colunas aos números de onda. A matriz de dados é decomposta em duas matrizes: “*scores*”, contendo novas coordenadas dos componentes principais (PC) e “*loadings*”, correspondendo ao peso, ou importância de cada número de onda no “*score*” de cada PC. O primeiro componente principal (PC1), descreve a maior parte da informação a respeito das amostras (variação das absorbâncias), enquanto o segundo PC (PC2), ortogonal ao primeiro, descreve o máximo de informação que não é descrita pelo primeiro PC, e assim para os demais componentes (BALLABIO; TODESCHINI, 2009). Os parâmetros de maior importância dos dados podem ser observados em um *plot* de dupla ou tripla dimensão. Devido à grande quantidade de números de onda utilizados, os gráficos correspondentes aos *scores* serão apresentados como

principais enquanto os *loadings* serão destacados em faixas específicas, delimitando os números de onda de maior influência nos “*scores*” obtidos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização físico química dos queijos

As análises físicos químicas foram realizadas nos queijos mais novos e os dados de umidade, teor de proteína total e gordura no extrato seco estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13 Valores de umidade, proteína total e gordura no extrato seco (GES) dos queijos Pecorino, Maturado e Gouda.

Queijo (Tempo de maturação)	Umidade (%)	Proteína total (%)	GES (%)
Pecorino PEC - 2M	27,6 ± 0,1	26,88	53,5 ± 0,4
Maturado MT - 1M	43,0 ± 0,1	21,93	56,2 ± 0,0
Gouda GOU - 2M	36,0 ± 0,0	19,91	58,2 ± 0,4

DP - Desvio Padrão; GES - Gordura no extrato seco; PEC - Pecorino; MT - Maturado; GOU - Gouda e M (meses) - Tempo de maturação.

As diferentes variedades de queijos apresentaram diferenças em termos do teor de umidade, conteúdo de proteína total e gordura no extrato seco, como verificado na Tabela 13.

De acordo com os dados apresentados, o queijo Pecorino se enquadra como um queijo de baixa umidade, e as variedades Maturado e Gouda classificam-se como de média umidade. Segundo Brasil (1996), de acordo com o conteúdo de umidade, em percentagem, os queijos classificam-se em baixa umidade (geralmente conhecidos como queijo de massa dura), aqueles com teores de até 35,9%; queijos de média umidade (geralmente conhecidos como queijo de massa semidura), aqueles com teores de umidade entre 36,0 e 45,9%; queijos de alta umidade (geralmente conhecido como de massa branda ou "macios"), com umidade entre 46,0 e 54,9% e queijos de muita alta umidade (geralmente conhecidos como de massa branda ou "mole"), os quais possuem umidade não inferior a 55,0%.

Em relação ao teor de gordura no extrato seco, é possível classificar todos os queijos como Gordos. Segundo Brasil (1996) os queijos se classificam como Extra Gordo (Duplo Creme), quando contenham o mínimo de 60% de GES; Gordos, para aqueles entre 45,0 e 59,9%; Semigordo, na faixa entre 25,0 e 44,9%; Magros, os que contenham entre 10,0 e 24,9% e Desnatados, aqueles com menos de 10,0%.

5.2 Caracterização espectroscópica dos diferentes tipos de queijo

Os queijos Pecorino, Maturado e Gouda foram analisados por espectroscopia do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) entre 4000 e 400 cm^{-1} . Na Figura 14 apresenta-se os espectros obtidos nas regiões onde estão pronunciadas as principais bandas de absorção, assim como estudado por Martín-del-Campo et al. (2007) e Lerma-García et al. (2010). De maneira geral, observou-se um perfil espectroscópico muito similar entre as variedades estudadas, sendo possível avaliar as faixas relacionadas à grupos de diferentes modalidades químicas devido ao fato de estarem associadas à vibrações específicas das moléculas. Cada região espectral, correspondendo a um pico, mostrou informações sobre a evolução da composição dos queijos (grupo estrutural ou funcional), com o passar do tempo de maturação.

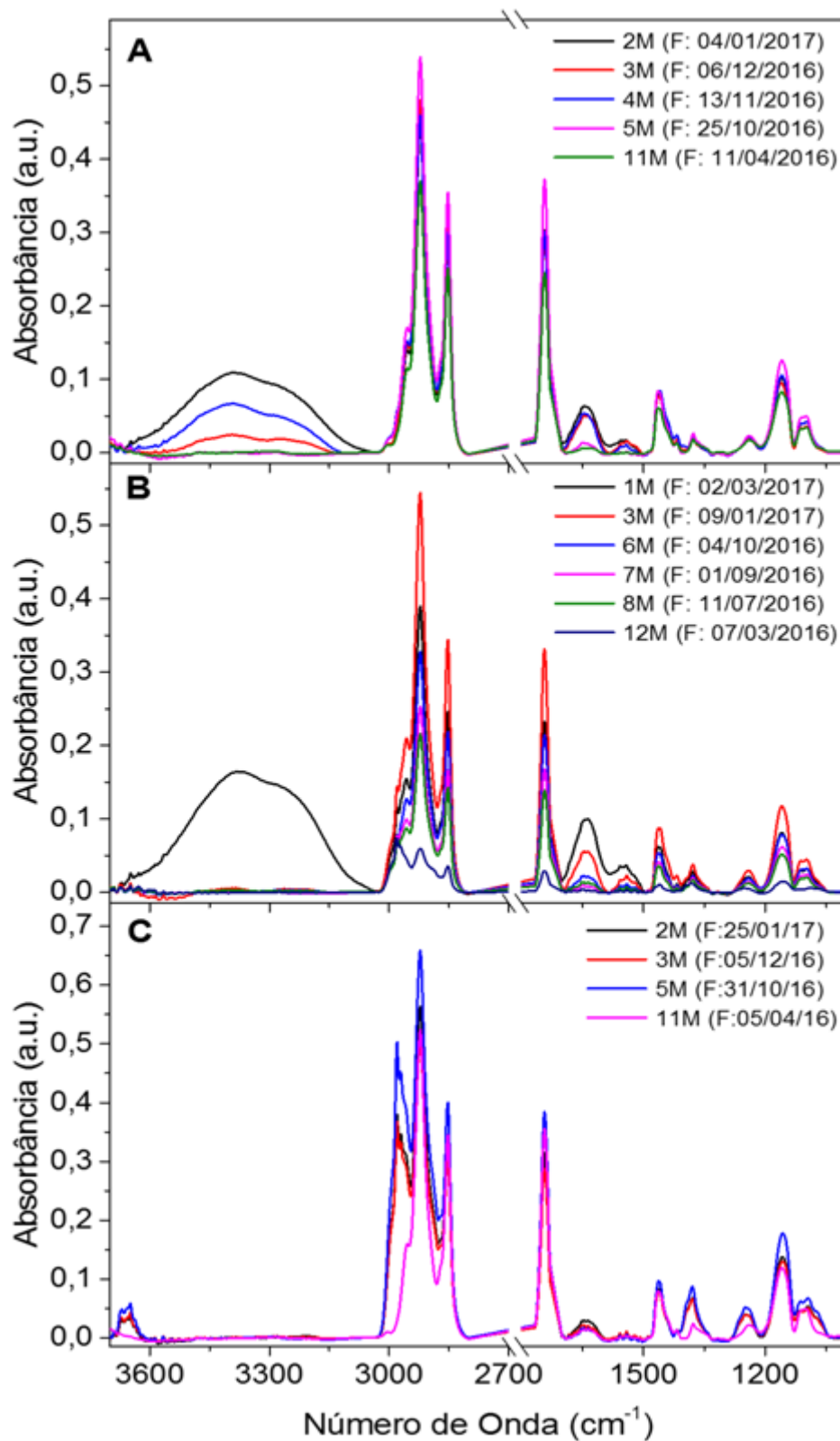


Figura 14 Espectros característicos de infravermelho médio (3700 a 1000 cm⁻¹), dos diferentes tipos de queijos durante a evolução da maturação. (A) - Pecorino, (B) - Maturado e (C) - Gouda.

Os espectros de ATR-IR apresentados na Figura 14 se caracterizaram por apresentar bandas de absorção na região de 3700 a 1000 cm^{-1} , sendo que os primordiais picos foram observados, principalmente nas regiões de 3670 a 2800 cm^{-1} e 1700 a 1000 cm^{-1} . Lerma-García et al. (2010), ao estudarem 33 queijos Pecorinos produzidos em 8 diferentes regiões italianas e trabalharem com um espectro de 4000 a 700 cm^{-1} , observaram que as principais diferenças entre os picos ocorreram nas faixas de número de onda de 3700 a 3000 e 1700 a 1000 cm^{-1} .

A região espectral de 2700 a 1800 cm^{-1} foi eliminada por não apresentar picos, assim como ocorrido em Lerma-García et al. (2010) e Martín-del-Campo et al. (2007).

Segundo McSweeney e Fox (1997), a bioquímica do amadurecimento do queijo é normalmente considerada sob três pontos gerais: proteólise, lipólise e glicólise. Destes processos, a proteólise e lipólise são consideradas de grande importância para a maioria das variedades de queijos maturados. Sendo assim, ao subdividir o espectro geral da Figura 14 em regiões mais estreitas, pode-se melhor observar as regiões referentes à proteína e lipídio e o comportamento dos picos durante a evolução do processo de maturação.

5.2.1 Efeitos da maturação no espectro infravermelho nas regiões Amida I e II

Ao subdividir o espectro geral (Figura 14), pode-se observar zonas de absorção ocorrendo entre 1700 a 1500 cm^{-1} . Esta região mostra dois importantes picos, a Amida I em 1640 cm^{-1} (ν C = O, ν C – N) e Amida II em 1550 cm^{-1} (δ N – H e ν C – N), associadas com a resposta de proteínas (MARTÍN-DEL-CAMPO et al., 2007). O comportamento dos picos com o desenvolver do processo de maturação pode ser visualizado na Figura 15.

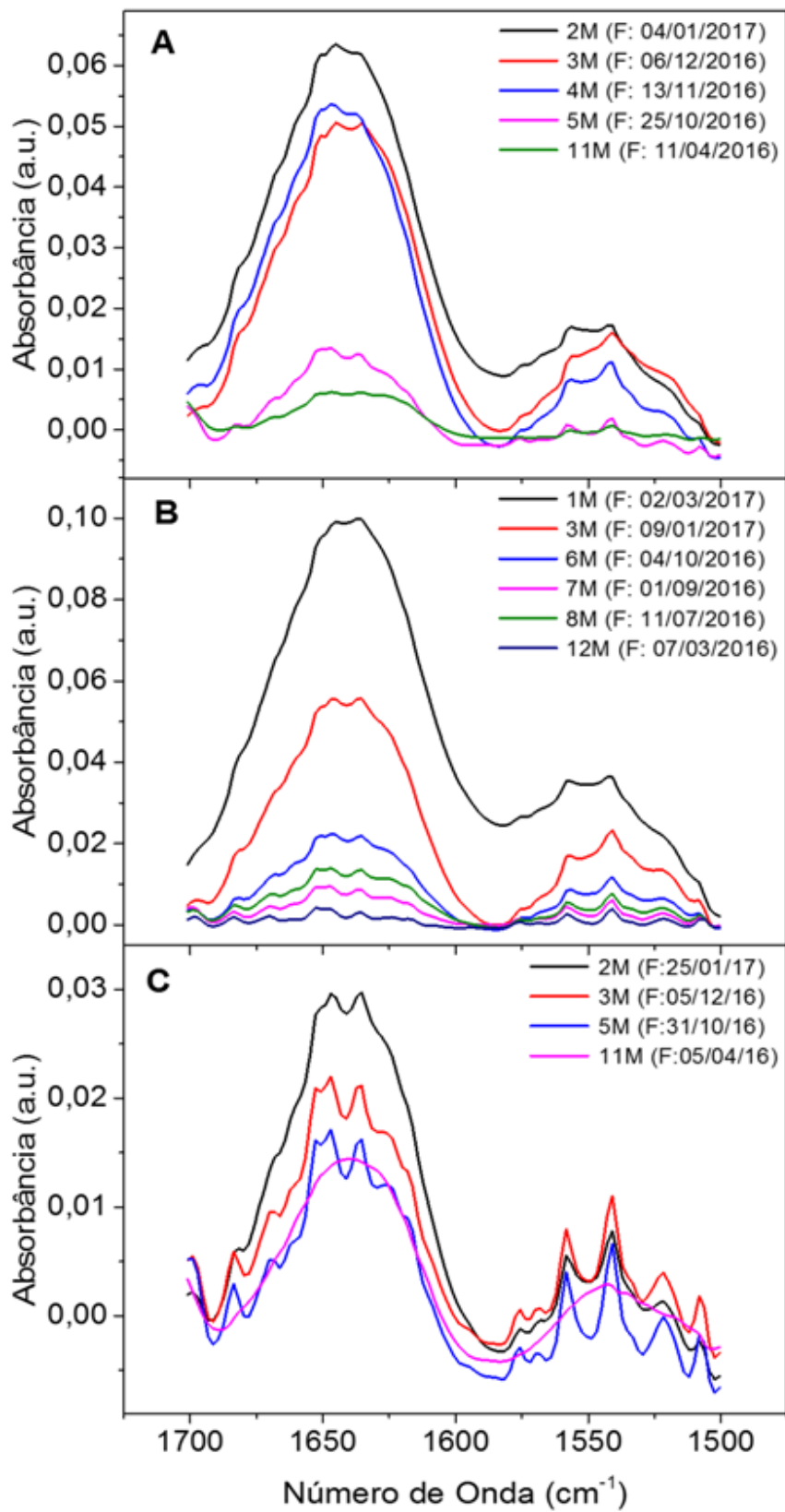


Figura 15 Região espectral do infravermelho médio (1700 a 1500 cm⁻¹), dos diferentes tipos de queijos e nos diversos tempos de maturação. (A) - Pecorino, (B) - Maturado e (C) - Gouda.

Constatou-se um comportamento semelhante nos dados de absorvância obtidos em função do tempo de maturação dos queijos, podendo-se observar que para todas as variedades estudadas, houve, de uma maneira geral, uma diminuição da absorvância durante o desenvolver do processo de maturação dos queijos. Este comportamento ocorreu nas duas típicas bandas de absorção, características e originárias de grupamento amida (1640 e 1550 cm^{-1}), o que vem a caracterizar a ocorrência do processo de proteólise, pela hidrólise de proteínas com ruptura de ligações peptídicas. E segundo Fox et al. (2000), a maturação em queijos altera, sobretudo, o conteúdo de proteína e gordura.

Martín-del-Campo et. al. (2007) ao utilizar a espectroscopia no infravermelho médio para estudar a caracterização dos estágios de maturação de duas zonas (núcleo e sob a casca) de queijos tipo Camembert, observaram alterações significativas para Amida I e II nas amostras retiradas sob a casca e apenas para a Amida II nas amostras retiradas do núcleo. O tempo de maturação analisado foi de 27 dias e os valores de absorvância diminuíram até o décimo dia e depois tenderam a aumentar até o final da maturação. Mazerolles et al. (2001), ao trabalhar com 16 queijos semi-duros, estudaram os espectros de infravermelhos médios (Amida I e II) em 1, 21, 51 e 81 dias de maturação constatando uma contínua queda na banda de Amida I e aumento da Amida II.

Ao avaliar a Figura 15, entretanto, observa-se que apesar das absorvâncias terem diminuído com o passar do tempo de maturação, a intensidade deste fenômeno (queda nos picos de Amida I e II) não foi a mesma dentre os queijos analisados e entre os meses de maturação. Para o queijo Pecorino, os maiores índices de proteólise ocorreram entre os meses 4 e 5 do processo de maturação. No queijo Maturado esta ocorrência pode ser verificada entre os meses 1 e 3, e já nos queijos Gouda, a proteólise pareceu ser mais constante com o passar do tempo. A diferença na intensidade de queda dos picos pode ser possivelmente explicada pelo fato de, segundo McSweeney (2004a e 2004b) e Upadhyay et al. (2004), os processos de hidrólise das caseínas (proteólise), da gordura (lipólise), e a fermentação da lactose nos queijos, são dependentes da composição do leite, do processo de fabricação, do pH, do teor de sal, da atividade de água, da temperatura de armazenamento, e, principalmente, do tipo de fermento presente no queijo. Sendo assim, como os queijos aqui estudados (variados tempos de maturação), foram produzidos com diferentes lotes de leite, os fatores mencionados acima podem ter influenciado o processo de proteólise de diferentes maneiras.

A evolução dos picos de amida foi estudada e descrita para diferentes variedades de queijos, e os estudos afirmaram que as modificações na intensidade dos picos de Amida I

estão associadas à alterações na estrutura secundária da caseína, agregação de proteínas e interação proteína/água (KULMYRZAEV et al., 2005; MARTÍN-DEL-CAMPO et al., 2007; MAZEROLLES et al., 2001; VANNINI et al., 2001).

Observando os dados obtidos para umidade dos queijos estudados (Tabela 13), as variedades Gouda e Maturado se enquadraram na classificação de queijos de massa semidura e o Pecorino como um queijo de massa dura. Segundo Farkey e Fox (1990), para a maioria dos queijos duros e semiduros, a proteólise é comumente usada como índice de maturação. Sendo assim, pelo comportamento e evolução dos picos obtidos nos espectros de ATR-IR, pode-se dizer que a tecnologia da espectroscopia infravermelha por transformada de Fourier (FTIR) foi capaz de verificar indicativos da ocorrência do fenômeno da proteólise durante o processo de maturação dos queijos, podendo, portanto ser considerada uma ferramenta de análise possivelmente útil e aplicável para detectar alterações moleculares que ocorrem durante o processo de maturação em queijos e que tem potencial para substituir ou auxiliar técnicas convencionais e muitas vezes dispendiosas que são comumente aplicadas nos laticínios para este fim.

5.2.2 Efeitos da maturação no espectro infravermelho nas regiões de lipídios

Além da proteólise, durante o processo de maturação ocorre também a lipólise, onde as enzimas lipolíticas (lipases) presentes nos queijos são responsáveis pela degradação da fração lipídica, liberando ácidos graxos livres, os quais são componentes importantes no desenvolvimento do aroma em queijos maturados (SCOTT, 1986). Para estudar a banda espectroscópica referente à parte lipídica e o seu comportamento durante o processo de maturação dos queijos, o espectro obtido na Figura 14 foi subdividido nas regiões mais estreitas referentes às bandas originárias de lipídeos (3000 a 2800 cm^{-1} e 1765 a 1730 cm^{-1}) (RODRIGUEZ-SAONA et al., 2006), como apresentado na Figura 16.

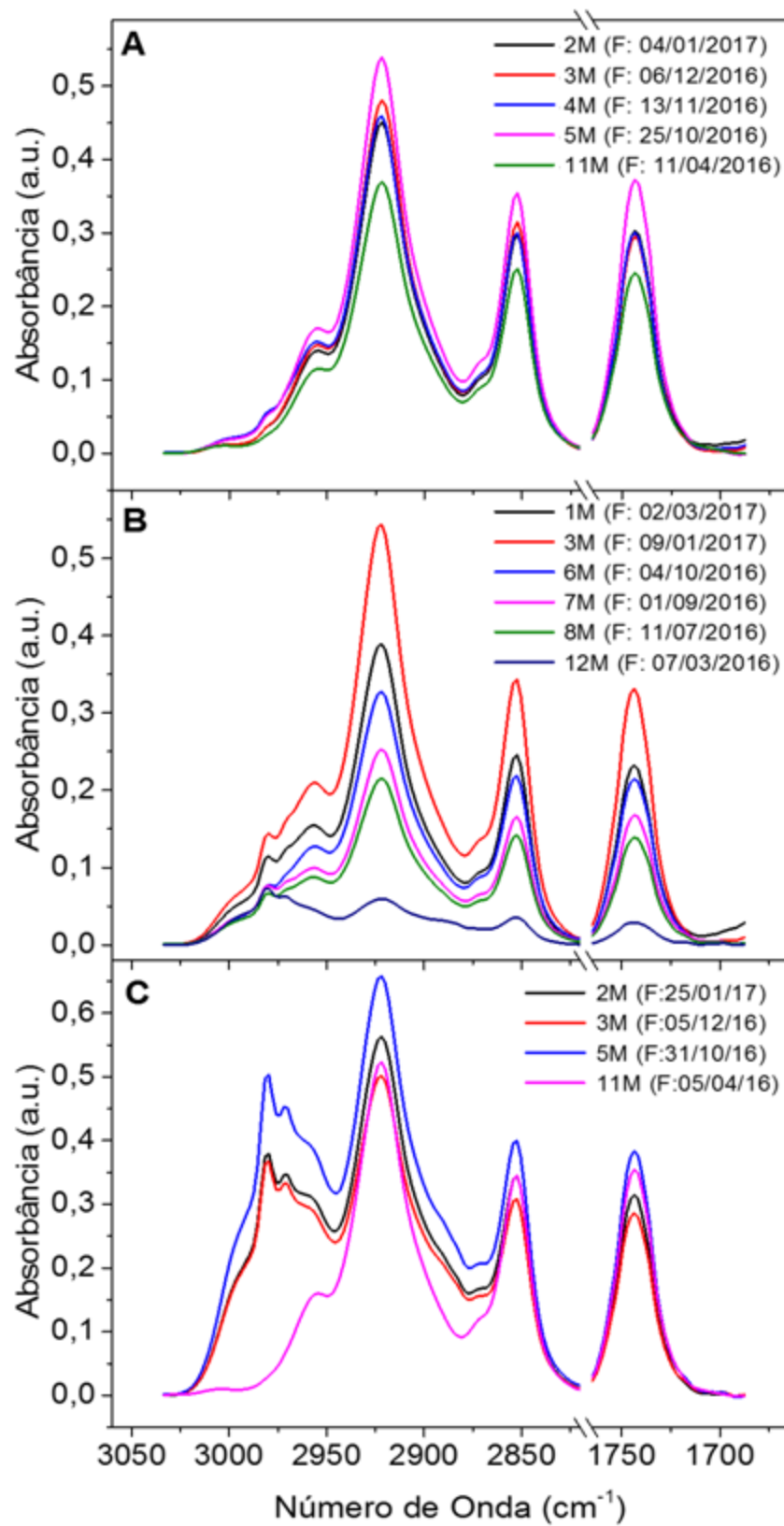


Figura 16 Região espectral do infravermelho médio (3000 a 2800 cm^{-1} e 1765 a 1730 cm^{-1}) dos diferentes tipos de queijos e nos diversos tempos de maturação. (A) - Pecorino, (B) - Maturado e (C) - Gouda.

Segundo McSweeney (2004), os triglicerídeos, em todas as variedades de queijo, sofrem hidrólise pela ação de lipases, o que resulta na liberação de ácidos graxos durante seus processos de maturação. Pela Figura 16 pode-se observar que de uma maneira geral os picos relacionados com gordura foram diminuindo com o decorrer do processo de maturação dos queijos. Segundo Collins et al. (2003), embora alguma lipólise ocorra na maioria ou todos os queijos, sua intensidade é mais extensa em algumas variedades italianas duras e em queijo azul. A contribuição da lipólise para a maturação de queijos Cheddar, Gouda e Suíço é baixa. Sendo assim, ao observar a Figura 16 pode-se constatar que, dentre as variedades de queijos estudadas, pelos espectros obtidos nas faixas de bandas de absorção relacionadas à presença de lipídeos, o queijo Gouda (Figura 16C) foi aquele que sofreu menor influência da lipólise durante seu processo de maturação, o que caracteriza espectros com valores de absorbância mais próximos uns dos outros durante o decorrer do tempo. Neste tipo de queijo, a diferença entre os valores das absorbâncias nos tempo inicial e final do processo de maturação foram sempre menores ao comparar com as variedades Pecorino e Maturado.

No geral, a espectroscopia de infravermelho se mostrou eficiente para o acompanhamento das modificações ocorridas nos diferentes queijos estudados durante o processo de maturação, em termos dos processos de hidrólise das caseínas (proteólise) e da gordura (lipólise). Entretanto devido à alta complexidade e heterogeneidade de composição e morfologia dos produtos analisados, variabilidades nos resultados dos espectros puderam ser observadas. Rodriguez-Saona et al. (2006) ao trabalhar com queijo suíço, enfatizou a ocorrência de variabilidade de interferências nos dados espectrais do IR devido à alta complexidade de sua matriz, a heterogeneidade composicional e morfológica, além deste tipo de queijo conter olhaduras.

5.3 Quimiometria - Análise de componentes principais (PCA)

A faixa de número de onda utilizada para a análise de componentes principais foi entre 1700 a 1000 cm^{-1} , que abrange grupamentos amida (provenientes de ligações peptídicas, por exemplo), grupamentos alcanos e ligações éster carbono-oxigênio (provenientes de fontes lipídicas) e entre 3000 a 2800 cm^{-1} e 1766 a 1730 cm^{-1} , faixas de números de ondas caracterizadas como típicas de lipídeos (HOOLER et al., 2009; RODRIGUEZ-SAONA et al., 2006).

Na Tabela 14 são mostrados os resultados do PCA da matriz proveniente dos espectros FTIR dos queijos Pecorino, Maturado e Gouda. Em todos os tipos de queijo estudados, o primeiro (PC1) e o segundo (PC2) componentes principais, já descrevem acima de 75% da variância acumulada dos espectros. No caso do queijo Pecorino, PC1 e PC2 descrevem 46,9 e 31,7%, respectivamente, e a correlação PC1 x PC2 (Figura 17) explica mais de 75% das alterações observadas entre os espectros das amostras obtidas nos intervalos de maturação de 2, 3, 4, 5 e 11 meses. O queijo Maturado (Figura 18), PC1 e PC2 descrevem 71,0 e 19,9%, explicando aproximadamente 91% das variações dos espectros entre os intervalos de maturação de 1, 2, 6, 7, 8 e 12 meses. Finalmente, a análise do queijo Gouda (Figura 19) revelou PC1 e PC2 descrevendo 58,9 e 32,6%, respectivamente, totalizando 91,5% da variabilidade dos dados entre 2, 3, 5 e 11 meses de maturação.

Tabela 14 Porcentagem da variância calculada pela análise de componentes principais utilizando parte dos espectros compreendida nas faixas de número de ondas entre 3000 a 2800 cm^{-1} , 1766 a 1730 cm^{-1} e de 1700 a 1000 cm^{-1} .

Amostra	Componente Principal	Variância (%)	Variância Acumulada (%)
Pecorino	1	46,9	46,9
	2	31,7	78,6
	3	12,9	91,5
	4	8,5	100,0
Maturado	1	71,0	71,0
	2	19,9	90,9
	3	6,3	97,2
	4	2,0	99,2
	5	0,8	100,0
Gouda	1	58,9	58,9
	2	32,6	91,5
	3	8,5	100,0

Os gráficos correspondentes à análise de componentes principais podem ser observados nas Figuras 17, 18 e 19, respectivamente para os queijos Pecorino, Gouda e Maturado.

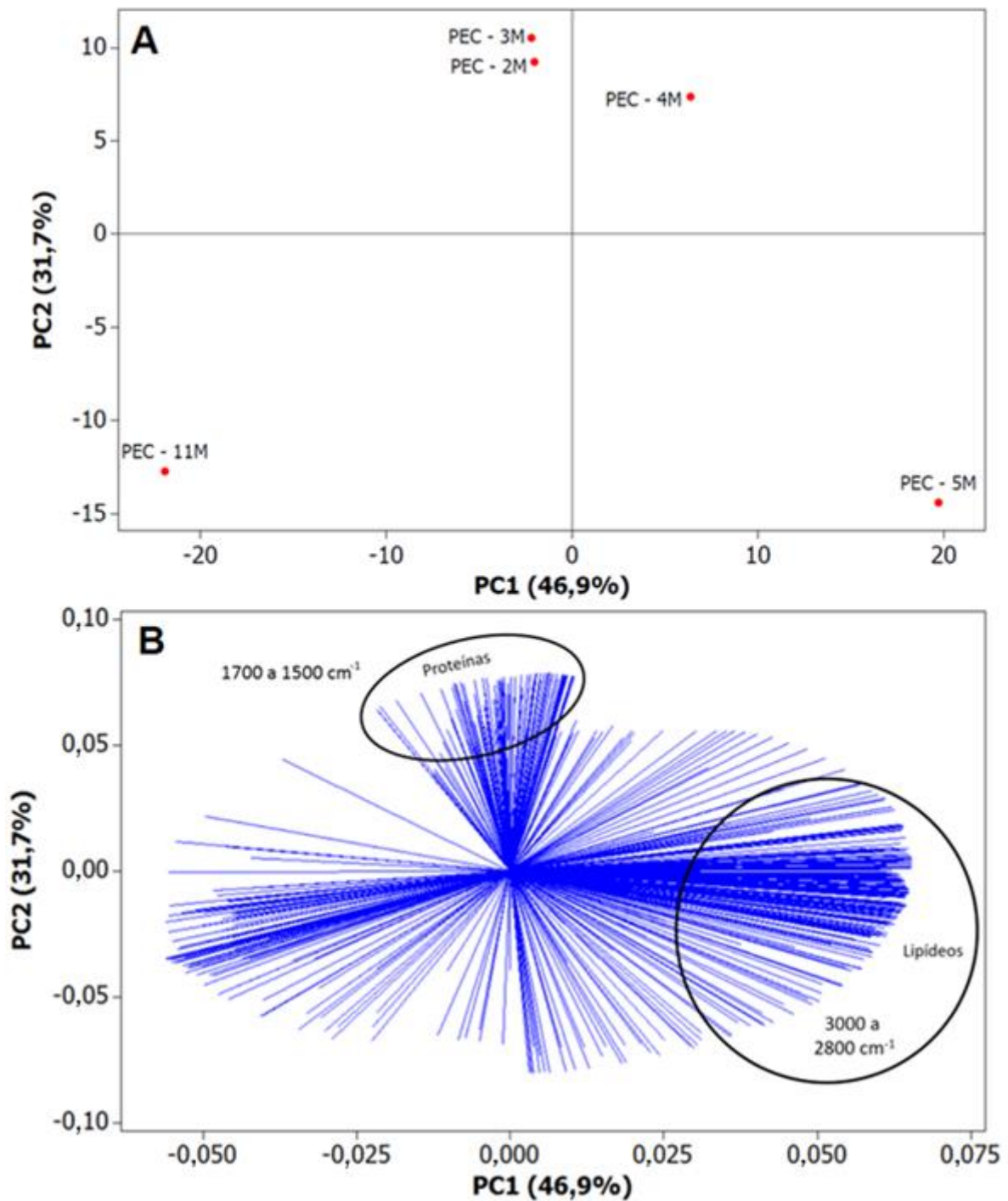


Figura 17 Análise de componentes principais dos espectros das amostras de queijo Pecorino. (A) Correlação entre as amostras (*scores*); (B) Influência dos números de onda (*loadings*).

Utilizando as zonas espectrais selecionadas, foi possível uma clara separação dos queijos perante as características de envelhecimento. No queijo Pecorino (Figura 17A), as amostras de 2 e 3 meses estão intimamente relacionadas em relação a ambos os eixos. Próximo a elas, também está posicionada a amostra de 4 meses. As regiões espectrais entre

1700 e 1500 cm^{-1} , correspondentes a picos de grupamentos amida (HOOLER et al., 2009; RODRIGUEZ-SAONA et al., 2006), foram as principais responsáveis por esta aproximação de acordo com o gráfico de *loadings* (Figura 17B). Durante a maturação de queijos, a proteólise é acentuada, levando a uma possível diminuição das ligações peptídicas, o que pode ser observado nos espectros da Figura 15.

As amostras de 5 e 11 meses não se correlacionam entre si em relação ao eixo principal 1 (PC1). Já em relação ao componente 2 (PC2), se relacionam entre si, mas não entre as outras amostras. A amostra de 5 meses apresentou picos nas faixas lipídicas (3000 a 2800 cm^{-1} e 1766 a 1730 cm^{-1}) com absorbâncias muito acentuadas em relação às outras amostras (Figura 16A). O gráfico de *loadings* (Figura 17B) confirma a observação espectral, havendo um maior peso na análise em relação aos picos lipídicos da faixa de 3000 a 2800 cm^{-1} . O teor de gordura inicial do leite influencia diretamente características reológicas e microestruturais do queijo (DO VALLE, 2004; GWARTNEY, 2002). Entretanto, durante a maturação também ocorre a lipólise. Com exceção da amostra de 5 meses, um perfil de diminuição é observado entre as demais amostras, em que a de 11 meses revelou os menores níveis destes picos. A região espectral relacionada a ligações -C-O, -O-H, -C(=O)-O-, =C-H (cis) e -C-H (CH_3), isto é, a faixa que compreende entre 1450 a 1200 cm^{-1} (LERMA-GARCIA et al., 2010) influenciou significativamente no posicionamento característico da amostra de 11 meses (Figura 17B). Tal região é de difícil interpretação por estar relacionada com a “impressão digital” do analito. Porém, os dados obtidos estão de acordo com as interpretações realizadas nas outras regiões.

Não foi utilizada a mesma matéria prima durante o processo de fabricação do produto. Dessa forma, pode-se inferir que a maior variabilidade dos dados espectrais é explicada positivamente pelo teor de grupamentos relacionados aos lipídeos das amostras (PC1), enquanto o teor de grupamentos amida (relacionado com proteínas) justificaria a correlação positiva do segundo componente (PC2), responsável pela aproximação entre as amostras menos maturadas.

Da mesma maneira, o queijo Gouda pode ser caracterizado (Figura 18).

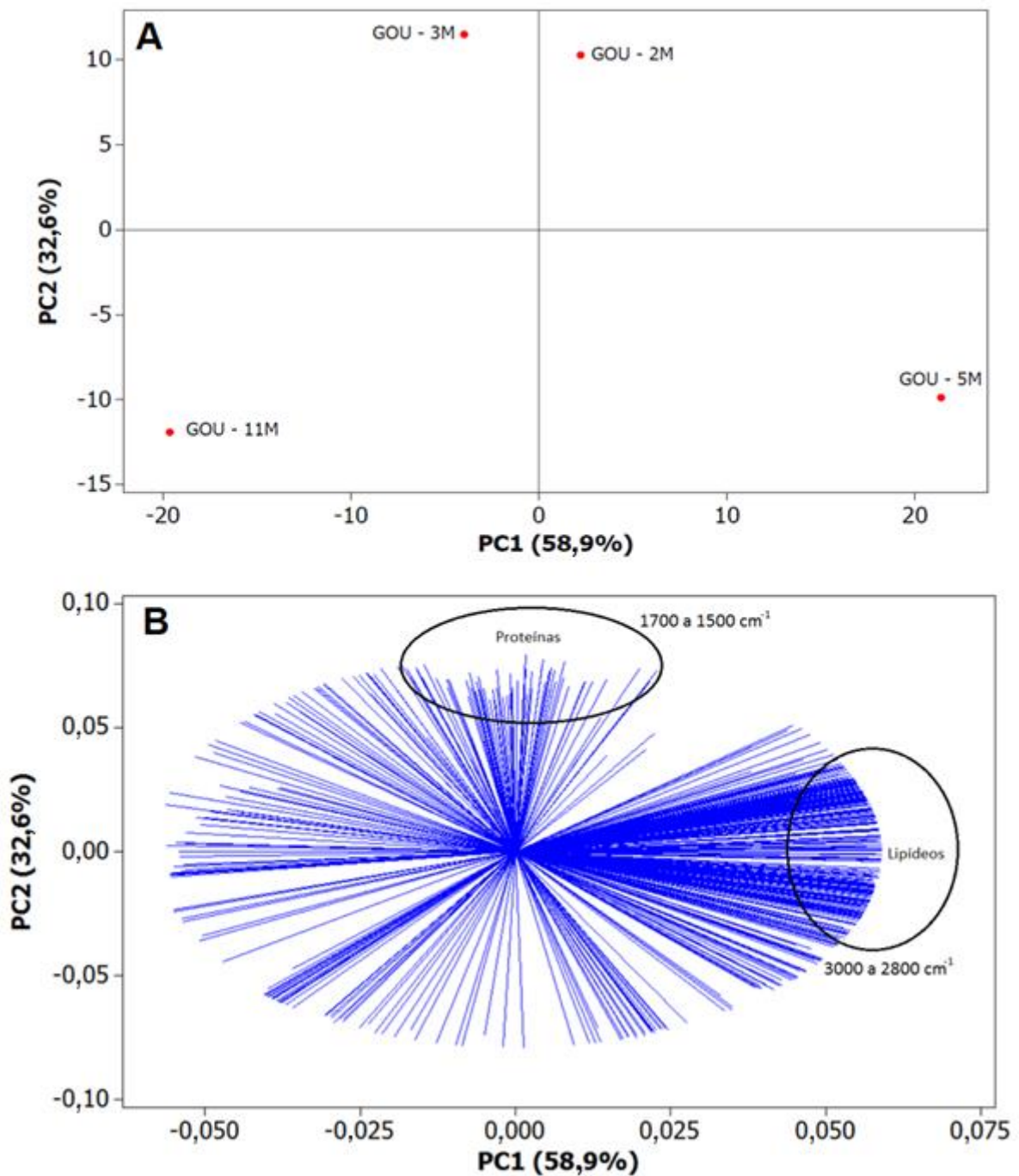


Figura 18 Análise de componentes principais dos espectros das amostras de queijo Gouda. (A) Correlação entre as amostras (*scores*); (B) Influência dos números de onda (*loadings*).

O mesmo padrão obtido para o queijo Pecorino foi observado aqui, em relação a análise de PCA. Os períodos mais recentes de maturação (2 e 3 meses) resultaram em boa correlação entre si perante o componente secundário, o qual também está relacionado aos

picos de grupamento amida (1700 a 1500 cm^{-1}) de acordo com o gráfico de *loadings* (Figura 18B). As amostras mais maturadas, também se correlacionam no componente secundário, porém negativamente em relação às mais recentes. Por outro lado, a maior variabilidade é explicada pelas faixas espectrais relacionadas à ligações químicas provenientes de lipídeos (3000 a 2800 cm^{-1} e 1765 a 1730 cm^{-1}) de acordo com o gráfico de *loadings* novamente (Figura 18B). Os espectros das amostras de Gouda apresentaram picos acentuados nestas faixas novamente na amostra com 5 meses de maturação (Figura 16C). Fato inesperado, uma vez que a lipólise deveria ser um pouco mais intensa neste período. Entretanto, este comportamento pode ter ocorrido em virtude de alteração dos teores da composição da matéria prima (falta de padronização). Assim como no queijo Pecorino, as amostras de 5 meses foram processadas na mesma época do ano, que pode estar relacionada com o período final da lactação das ovelhas, podendo resultar em um teor de gordura mais elevado neste lote.

A amostra de 11 meses revelou pontos com níveis muito inferiores e outros sem diferenças significativas nestas bandas, em especial nos arredores de 2955 cm^{-1} (Figura 16C). Entretanto, assim como no queijo Pecorino, a região de “impressão digital” compreendida entre 1400 a 1300 cm^{-1} , típica de carboidratos como a lactose, influenciou significativamente a amostra mais maturada. Portanto, o componente principal, mais uma vez, é influenciado pelas faixas de números de onda correspondentes aos lipídeos e cadeias carbônicas, enquanto o secundário é influenciado positivamente pelas faixas de grupamentos amida.

Em relação ao queijo Maturado (Figura 19), pode-se observar uma maior influência da faixa proteica de 1700 a 1500 cm^{-1} na amostra com um mês de maturação enquanto a faixa correspondente à ligações provenientes de lipídeos influenciou positivamente a posição da amostra de 3 meses de maturação. Perante o componente secundário, apenas a amostra mais recente se correlaciona de maneira oposta às demais, uma vez que as absorvâncias obtidas na faixa espectral das proteínas são muito mais intensas nesta amostra comparado às mais maturadas (Figura 15B), indicando intensa proteólise da amostra no primeiro trimestre de maturação. O componente de maior variabilidade mostra uma intensa diversidade perante todas as amostras, podendo ser observada uma linha do tempo na correlação entre elas, de acordo, principalmente, com a faixa lipídica (3000 a 2800 cm^{-1}). Com exceção da amostra de 3 meses, todas as outras seguem o padrão temporal de diminuição da intensidade das bandas e picos lipídicos (Figura 16B), indicando, mais uma vez, a lipólise como fator de maturação do queijo.

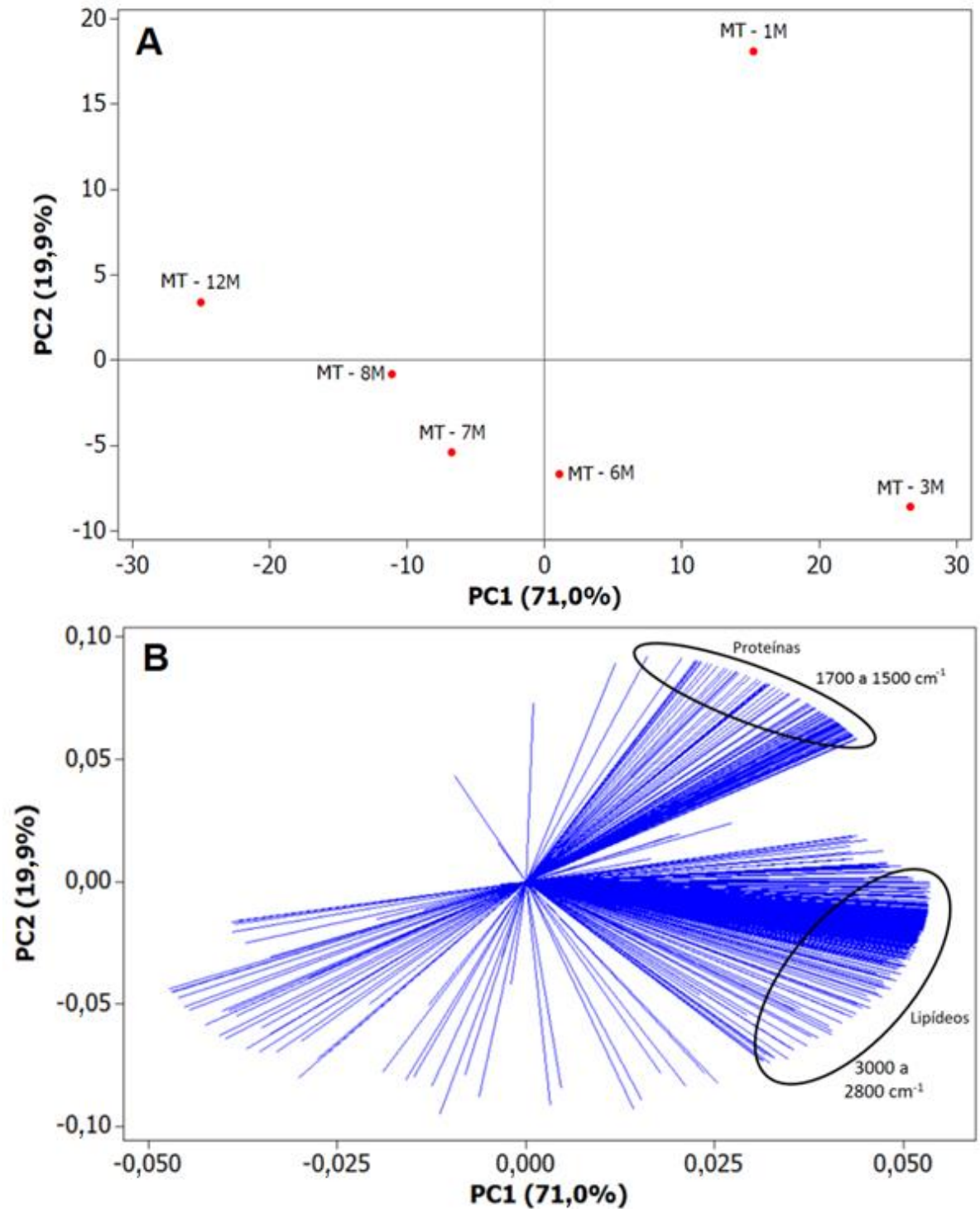


Figura 19 Análise de componentes principais dos espectros das amostras de queijo Maturado. (A) Correlação entre as amostras (*scores*); (B) Influência dos números de onda (*loadings*).

Um grande número de proteínas e peptídeos em queijos contribui para bandas de amidas (Amida I e Amida II), entre 1700 a 1500 cm^{-1} . Entretanto, essas bandas podem conter informações gerais sobre as proteínas dos queijos, mas também interações que possam ocorrer com outros componentes como íons, água e proteínas (HOOLER et al., 2009). Mazerolles et al. (2001 e 2002) estudaram a região espectral entre 1700 e 1500 cm^{-1} em diferentes tipos de queijos e tempos de maturação de até aproximadamente 90 dias. Os autores observaram perfis distintos, mas com repetibilidade suficiente para a separação de suas diferentes amostras. Foi observada uma diminuição de intensidade de pico em 1652 cm^{-1} enquanto as bandas em aproximadamente 1620, 1565, 1550 e 1515 cm^{-1} aumentaram continuamente durante a maturação. Interpretações realizadas por outros trabalhos também demonstraram a discriminação entre diferentes queijos por meio da PCA. Com a discussão a partir dos espectros, diversos fenômenos puderam ser detectados para justificar as alterações das absorvâncias observadas nas bandas de grupamento amida durante a maturação, em especial o fenômeno proteolítico da primeira fase da maturação de queijos, isto é, no primeiro mês da maturação. Porém, os dados por eles obtidos contrastam com os perfis observados neste trabalho. Kulmyrzaev et al. (2005) apresentaram espectros semelhantes na faixa lipídica do infravermelho (3000 a 2800 cm^{-1}), entretanto, o perfil espectral mostrou um aumento na absorvância nessas bandas durante os primeiros 30 dias de maturação de queijos moles. Os autores concluíram que esta região não contribui de forma significativa e que suas alterações estão relacionadas com interações entre proteína e gordura na rede proteica do queijo. Martin-del-Campo et al. (2007), também observaram um aumento da absorção na faixa proteica (de 1700 a 1500 cm^{-1}) na primeira fase da maturação de queijos. Dessa forma, os diferentes tempos de maturação geram informações espectrais também diferentes, que devem ser analisadas com cautela durante a associação com o índice de maturação dos queijos.

A análise de componentes principais dos espectros obtidos corrobora com a análise do tempo de maturação do queijo uma vez que fatores importantes como a proteólise e a lipólise podem ser visualizadas e interpretadas em curto intervalo de tempo. Em estudo com queijos semi-duros, Kraggerud et al. (2014) demonstraram a importância da validação dos dados espectrais com resultados de análise sensorial da maturação de queijos. É de extrema importância esta análise complementar, a fim da determinação do melhor tempo de maturação e obtenção de informações características do produto de melhor aceitação, visando um produto de maior qualidade, maior alcance no mercado, com menor tempo de análise, além da maior lucratividade para o produtor.

6 CONCLUSÕES

O método analítico, utilizando espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e refletância total atenuada (FTIR-ATR), foi utilizado com sucesso para monitorar a evolução do processo de maturação em queijos, devido às atividades enzimáticas proteolíticas (proteases) e lipolíticas (lipases), presentes nos queijos Pecorino, Maturado e Gouda. Sendo uma técnica rápida, não destrutiva e precisa, sua utilização nas indústrias laticínias, como ferramenta de avaliação do processo de maturação de queijos, pode ser vista com alto potencial no auxílio da medição de parâmetros da qualidade. Com a interpretação dos espectros utilizando a análise quimiométrica de componentes principais (PCA), foi possível diferenciar os tempos de maturação e traçar uma linha temporal entre eles, além de correlacioná-la com as alterações moleculares ocorridas nas amostras. Ao implantar essa técnica nos laticínios, a principal vantagem em relação à metodologia convencional para avaliação da maturação dos queijos será a avaliação da proteólise e lipólise utilizando-se uma única amostra, sem tratamento prévio, com rapidez analítica e possibilidade de automatização total do processo.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Nesta pesquisa foi possível verificar a aplicabilidade da espectroscopia infravermelha por transformada de Fourier (FTIR) como uma potencial ferramenta analítica para verificação do processo de maturação em queijos. Como sugestões para trabalhos futuros pode-se citar:

- Correlacionar os espectros obtidos na banda de ocorrência das amidas com a profundidade da proteólise (em termos quantitativos), a qual é normalmente quantificada industrialmente através da técnica tradicional (Kjedahl);
- Ajustar curvas que possibilitam correlacionar as duas técnicas (FTIR e método de Kjedahl), através de dados de tempo, absorbância e índice da maturação;
- Correlacionar os dados obtidos pela espectroscopia de infravermelho na evolução da lipólise durante o processo de maturação dos queijos, com a identificação e quantificação dos ácidos graxos por cromatografia em fase gasosa;
- Validar dados espectrais da maturação de queijos com a análise sensorial nos diferentes tempos de maturação.

REFERÊNCIAS

- ADDIS, M. et. al. Effect of the use of three different lamb paste rennets on lipolysis of the PDO Pecorino Romano Cheese. **International Dairy Journal, Barking**, v. 12, n. 6, p. 563-569, 2005.
- AGARWAL, S. et. al. Nonstarter Lactic Acid Bacteria Biofilms and Calcium Lactate Crystals in Cheddar Cheese. **Journal of Dairy Science**. v. 89, n. 5, p. 1452-1466. 2006a.
- AGARWAL, S. et. al. Cheese pH, protein concentration, and formation of Calcium Lactate Crystals. **Journal of Dairy Science**. v. 89, n. 11, p. 4144-4155, 2006b.
- AGARWAL, S. et. al. Influence of salt-to-moisture ratio on Starter Culture and Calcium Lactate Crystal formation. **Journal of dairy science**, v. 91, n. 8, p. 2967-2980, 2008.
- AMAMCHARLA, J. K.; METZGER, L. E. Evaluation of a rapid protein analyzer for determination of protein in milk and cream. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 8, p. 3846-3857, 2010.
- ASSENAT, L. Leche de oveja: composición y propiedades. In: LUQUET, F. M.; KEILLING, J.; WILDER, R. **Leche y productos lácteos: vaca-oveja-cabra**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1991. v. 1, p. 277-313.
- BALLABIO, Davide; TODESCHINI, Roberto. Multivariate classification for qualitative analysis. **Infrared spectroscopy for food quality analysis and control**, p. 83-104, 2009.
- BALLABIO Davide; TODESCHINI Roberto. Multivariate Classification for Qualitative Analysis. In: **Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control**. Ed. Da-Wen Sun. Academic Press. Elsevier. Oxford, UK. 2009.
- BARILLET, F; BOCQUIER, F. Le contexte de production des ovins laitiers en France: principaux objectifs de recherche-development et conditions de leur mise en oeuvre. **INRA Productions Animales**, v. 6, n. 1, p. 17-24, 1993.
- BENCINI, R. Factors affecting the clotting properties of sheep milk. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, n. 7, p. 705-719, 2002.
- BENCINI, R.; PULINA, G. The quality of sheep milk: a review. **Animal Production Science**, v. 37, n. 4, p. 485-504, 1997.
- BERGAMINI, C. V. et al. Characterisation of biochemical changes during ripening in Argentinean sheep cheeses. **Small Ruminant Research**, v. 94, n. 1, p. 79-89, 2010.
- BOTELLO, G. B. **Desenvolvimento e validação de métodos para análise direta de alimentos usando ferramentas quimiométricas, espectroscopia no infravermelho e imagens digitais**. 2014. 136f. Tese (Doutorado em química) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

BRÁS, L. P. et al. Multiblock PLS as an approach to compare and combine NIR and MIR spectra in calibrations of soybean flour. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 75, n. 1, p. 91-99, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os métodos analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 14 dez. 2006. Seção 1, p. 8.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 11 mar. 1996. Seção 1, p. 3977.

BRITO, M. A. et al. Composição do sangue e do leite em ovinos leiteiros do sul do Brasil: variações na gestação e na lactação. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 3, n. 36, p. 942-948, 2006.

BUENO, W. A. **Manual de espectroscopia vibracional**. McGrawHill, 1989.

CAMPOS, L. **Aspectos benéficos do leite de ovelha e seus derivados**. Bento Gonçalves, 2011. Disponível em: < http://www.casadaovelha.com.br/files/pesquisa_tecno_cientifica.pdf> Acesso em: 3 dez. 2016.

CAVALLI, S. V. et al. Hydrolysis of caprine and ovine Milk proteins, brought about by aspartic peptidases from *Silybum marianum* flowers. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 106, n. 3, p. 997-1003, 2008.

CETEA INFORMATIVO. ATR: **Avanço da espectroscopia de infravermelho na análise de materiais plásticos**. Disponível em: <www.cetea.ital.org.br/informativo/v21n3/v21n3_artigo1>. Acesso em: 18 de março de 2017.

CHUNG, H.; KU, M. S.; LEE, J. S. Comparison of near-infrared and mid-infrared spectroscopy for the determination of distillation property of kerosene. **Vibrational spectroscopy**, v. 20, n. 2, p. 155-163, 1999.

COATES, J. Vibrational Spectroscopy: Instrumentation for Infrared and Raman Spectroscopy. **Applied spectroscopy reviews**. v. 33, n. 4, p. 267-425, 1998.

COLLINS, Y. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; WILKINSON, M. G. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 11, p. 841-866, 2003.

COLÓQUIO. Defesa da tipicidade dos queijos Serpa e Terrincho. Disponível em: <www.pubol.ipbeja.pt/edi/queijos.pdf>. Acesso em 18 de maio de 2017.

COSTA, R. G. B.; LOBATO, V. ABREU, L. R. MAGALHÃES, F. A. R. Salga de queijos em salmoura: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. v. 59, n. 336 a 338, p. 41-49, 2004.

DEMING, S. N.; MORGAN, S. L. **Experimental design: a chemometric approach**. 2 ed. Elsevier, Amsterdam. 1993.

DI CAGNO, R. et al. Comparison of the microbiological, compositional, biochemical, volatile profile and sensory characteristics of three Italian PDO ewes' milk cheeses. **International Dairy Journal**, v. 13, n. 12, p. 961-972, 2003.

DO VALLE, J. L. E. et al. Influência do teor de gordura nas propriedades funcionais do queijo tipo mozzarella. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 24, n. 4, p. 669-673, 2004.

DOWNEY, G. et al. Near-and mid-infrared spectroscopies in food authentication: coffee varietal identification. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 11, p. 4357-4361, 1997.

EL SODA, M. Acceleration of flavour formation during cheese ripening. **Developments in Food Science**, v. 37, p. 721-746, 1995.

FAOSTAT. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. (2014). Disponível em: <https://dairy.ahdb.org.uk/market-information/processing-trade/dairy-product-production/world-dairy-product-production/#.WRXsn2grJEa>.

FARKYE, N. Y.; FOX, P. F. Objective indices of cheese ripening. **Trends in Food Science & Technology**, v. 1, p. 37-40, 1990.

FERRÃO, M. F. et al. Determinação simultânea dos teores de cinza e proteína em farinha de trigo empregando NIR-PLS e DRIFT-PLS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, n. 3, p. 333-340, 2004.

FERREIRA, M. I. C. **Produção e composição do leite de ovelhas Santa Inês e mestiças Lacaune x Santa Inês e biometria de seus cordeiros**. 2009. 80f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

FONTAN, R. C. I. et al. Determinação do Coeficiente Efetivo de Difusão do Cloreto de Sódio em Queijo Mussarela. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 59, n. 336 a 338, 2004.

FOX, P. F. **Cheese: chemistry physics and microbiology**. vol. 1, General aspects. London U.K.: Chapman &, 2. ed., 1993a. 601p.

FOX, P. F. et al. **Fundamentals of Cheese Science**. Maryland: An Aspen Publication, 638p. 2000.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. In: **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**. Cheese: an overview. London: Elsevier, v.1: General Aspects, (3 ed)., p. 1-18, 2004.

FURTADO, M. M. **A arte e a ciência do queijo**. São Paulo: Globo, 1991. 297p.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos causas e prevenção**. 2. ed. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora. 2005. 200p.

FURTADO, M. M. **Queijo com olhaduras**. 1 ed. São Paulo: Fonte Comunicações, 2007. 179p.

FURTADO, M. M. **Queijos Duros**. 1 ed. São Paulo: Setembro Editora, 2011. 212p.

FURTADO, M. R. A. **Caracterização histórica, tecnologia de fabricação, características físico-químicas, sensoriais, perfil de textura e de comercialização do queijo Reino**. 2008. 95f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

FURTADO, M. M.; NETO, L. M. P. J. **Tecnologia de queijos: manual técnico para a produção industrial de queijos**. 1 ed. São Paulo: Dipemar Editora, 1994. 118p.

GELADI, P. Chemometrics in spectroscopy. Part 1. Classical chemometrics. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 58, n. 5, p. 767-782, 2003.

GELADI, P. Some recent trends in the calibration literature. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 60, n. 1, p. 211-224, 2002.

GUINEE, T. P.; FOX, P. F. **Salt in cheese: physical, chemical and biological aspects**. In: FOX, P.F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. v.1, London: Elsevier, p. 251-297, 1987.

GUINEE, T. P.; FOX, P. F. Sodium chloride and moisture changes in Romano-type cheese during salting. **Journal of Dairy Research**, v. 50, n. 04, p. 511-518, 1983.

GEURTS, T. J.; WALSTRA, P.; MULDER, H. Transport of salt and water during salting of cheese. 1. Analysis of the processes involved. **Netherlands Milk Dairy Journal**, n. 28, p. 102-129, 1974.

GWARTNEY, E. A.; FOEGEDING, E. A.; LARICK, D. K. The texture of commercial full-fat and reduced-fat cheese. **Journal of food science**, v. 67, n. 2, p. 812-816, 2002.

HAENLEIN, G. F. W. Past., present and future perspectives on small ruminant dairy research. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 9, p. 2097-2115, 2001.

HARBUTT, J. **A complete illustrated guide to the cheeses of the world**. Annes Publishing Inc.: New York. 1999.

HELFER, G. A. et al. Aplicação de métodos de análise multivariada no controle qualitativo de essências alimentícias empregando espectroscopia no infravermelho médio. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 26, n. 4, p. 779-786, 2006.

HOFMEISTER, L. C. et al. Salga de queijo tipo Minas por impregnação a vácuo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 3, 2005.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A; CROUCH, S. R. **Princípios de análise instrumental**. Tradução para o português: CÉLIO PASQUINI et al [Coord.]. 6ª ed. Porto alegre. 2009.

IÑÓN, F. A.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. Nutritional parameters of commercially available milk samples by FTIR and chemometric techniques. **Analytica Chimica Acta**, v. 513, n. 2, p. 401-412, 2004.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos. 4a. Edição. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2004. 1032p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Banco de dados agregados SIDRA. **Censo agropecuário 2006**. Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br >.

IRUDAYARAJ, J.; XU, F.; TEWARI, J. Rapid determination of invert cane sugar adulteration in honey using FTIR spectroscopy and multivariate analysis. **Journal of food science**, v. 68, n. 6, p. 2040-2045, 2003.

JANKOVSKÁ, R.; SUSTOVÁ, K. Analysis of cow milk by near-infrared spectroscopy. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 21, n. 4, p. 123-128, 2003.

KALASINSKY, K. S. Industrial applications of vibrational spectroscopy. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 9, n. 3, p. 83-89, 1990.

KRAGGERUD, H.; NÆS, T.; ABRAHAMSEN, R. K. Prediction of sensory quality of cheese during ripening from chemical and spectroscopy measurements. **International Dairy Journal**, v. 34, n. 1, p. 6-18, 2014.

KREMER, R. et al. Machine milk yield and composition of non-dairy Corriedale sheep in Uruguay. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 19, n. 1, p. 9-14, 1996.

KULMYRZAEV, A. et al. Investigation at the molecular level of soft cheese quality and ripening by infrared and fluorescence spectroscopies and chemometrics - relationships with rheology properties. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 6, p. 669-678, 2005.

LERMA-GARCÍA, M. J. et al. Classification of Pecorino cheeses produced in Italy according to their ripening time and manufacturing technique using Fourier transform infrared spectroscopy. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 10, p. 4490-4496, 2010.

LEWIS, G.; MATHIEU, D.; PHAN-TAN-LUU, R. **Pharmaceutical Experimental Design**, Marcel Dekker, New York, NY. 1998.

MANOLOPOULOU, E. et al. Evolution of microbial populations during traditional Feta cheese manufacture and ripening. **International Journal of Food Microbiology**, v. 82, n. 2, p. 153-161, 2003.

MARCOS, A. et al. Water activity and chemical composition of cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 64, n. 4, p. 622-626, 1981.

MARTENS, H.; NAES, T. **Multivariate Calibration**. Wiley, Chichester, 1989.

MARTÍN-DEL-CAMPO, S. T. et al. Middle infrared spectroscopy characterization of ripening stages of Camembert-type cheeses. **International Dairy Journal**, v. 17, n. 7, p. 835-845, 2007.

- MASSART, D. L. et al. **Chemometrics: a textbook**. Elsevier, Amsterdam, 1988.
- MASUI, K.; YAMADA, T. **Queijos franceses**. Rio de Janeiro: Ediouro, 1999.
- MAYER, H. K.; FIECHTER, G. Physical and chemical characteristics of sheep and goat milk in Áustria. **International Dairy Journal**, Barking, v. 24, n. 2, p. 57-63, 2011.
- MAZEROLLES, G. et al. Chemometric methods for the coupling of spectroscopic techniques and for the extraction of the relevant information contained in the spectral data tables. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 63, n. 1, p. 57-68, 2002.
- MAZEROLLES, G. et al. Infrared and fluorescence spectroscopy for monitoring protein structure and interaction changes during cheese ripening. **Le Lait**, v. 81, n. 4, p. 509-527, 2001.
- MCSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v. 57, n. 2-3, p. 127-144, 2004a.
- MCSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening: introduction and overview. **Cheese: Chemistry, physics and microbiology**, v. 1, p. 347-360, 2004b.
- MCSWEENEY, P. L. H. **Cheese problems solved**. Woodhead Publishing Limited, England, 2007, 425p.
- MCSWEENEY, P. L. H.; FOX, P. F. Metabolism of residual lactose and of lactate and citrate. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**, v. 1, p. 361-371, 2004.
- MCSWEENEY, P. L. H.; FOX, P. F. Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. **Le lait**, v. 77, n. 1, p. 41-76, 1997.
- MCSWEENEY, P. L. H; SOUSA, M. J. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. **Le Lait**, v. 80, n. 3, p. 293-324, 2000.
- MENG, J.; DOYLE, M. P. Emerging and evolving microbial foodborne pathogens. **Bulletin de l'Institut Pasteur**, v. 96, n. 3, p. 151-163, 1998.
- MEYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C. **Response surface methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments**. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1995.
- MMO - Milk Market Observatory (2016). European Comission: agriculture and rural development. Disponível em: https://ec.europa.eu/agriculture/sites/agriculture/files/market-observatory/milk/pdf/world-production-main-dairy-products_en.pdf. Acesso em: 28 julho 2017.
- MORA-GUTIERREZ, A.; Jr FARREL, H. M.; ATTAIE, R., et al. Effects of bovine and caprine Monterey Jack cheeses fortified with milk calcium on bone mineralization in rats. **International Dairy Journal**, Barking, v. 17, p. 255-267, 2007.

MORAND-FEHR, P. et al. Influence of farming and feeding systems on composition and quality of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1, p. 20-34, 2007.

MORGAN, E. **Chemometrics: Experimental Design**. Wiley, Chichester. 1991.

MORGANO, M. A. et al. Determination of protein in raw coffee for NIR spectroscopy and regression PLS. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 25, n. 1, p. 25-31, 2005.

MORRIS, H. A.; GUINEE, T. P.; FOX, P. F. Salt Diffusion in Cheddar Cheese1. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 8, p. 1851-1858, 1985.

NUDDA, A. et al. The yield and composition of milk in Sarda, Awassi, and Merino sheep milked unilaterally at different frequencies. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 85, n. 11, p. 2879-2884, 2002.

OCHOA-CORDERO, M. A. et al. Milk yield and composition of Rambouillet ewes under intensive management. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 43, n. 3, p. 269-274, 2002.

OLIVEIRA, A. A. **Produção e composição do leite de ovelhas da raça Bergamácia suplementadas com óleo de linhaça (*Linum usitatissimum L.*)**. 2012. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, 2012.

OLIVEIRA, J. S. **Queijo: Fundamentos Tecnológicos**. Editora da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). 1996.

PARK, Y. W. et al. Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 68, n. 1-2, p. 88-113, 2007.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. Trad. Pedro Barros. São Paulo: Cengage Learning, 2012.

PAYNE, M. R.; MORISON, K. R. A multi-component approach to salt and water diffusion in cheese. **International Dairy Journal**, v. 9, n. 12, p. 887-894, 1999.

PEETERS, R. et al. Milk yield and milk composition of Flemish milk sheep, Suffolk and Texel ewes and their crossbreds. **Small Ruminant Research, Amsterdam**, v. 7, n. 4, p. 279-288, 1992.

PELLEGRINI, L. G. **Caracterização do leite ovino em função do período de lactação**. 2012. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012a.

PELLEGRINI, L. G. et al. Caracterização físico-química dos queijos Pecorino frescal, Labneh e Feta produzidos com leite ovino. **Anais: XV Simpósio Paranaense de Ovinocultura...** In: Synergismus scyentifica. Pato Branco, v. 7, n. 1, 2012b.

PENNA, C. F. A. M. **Produção e parâmetros de qualidade de leite e queijos de ovelhas Lacaune, Santa Inês e suas mestiças submetidas a dietas elaboradas com soja ou linhaça**.

2011. 155f. Tese (Doutorado em Produção Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

PEREIRA, D. B. C. et al. **Físico Química do Leite e Derivados: Métodos Analíticos**. Juiz de Fora. 2 ed. Templo Gráfica e Editora. 2001. 234p.

PEREIRA, J. A. **Efeito da composição físico-química e higiênico sanitária do leite na produção de queijo minas padrão**. 2014. 85f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do leite) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2014

PERES, J. R. O leite como ferramenta do monitoramento nutricional. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S. (Ed.). **Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. p. 29-43.

PERKINS, W. D. Fourier transform-infrared spectroscopy: Part I. Instrumentation. **J. Chem. Educ**, v. 63, n. 1, p. A5-A10, 1986.

PINTO, M. S. **Diagnóstico socioeconômico cultural e avaliação dos parâmetros físicos-químicos e microbiológicos do queijo minas artesanal do serro**. 2004. 134f. Tese (Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

PIRES, M. C. S. **Memória e arte do queijo do Serro: o saber sobre a mesa**. Belo Horizonte: Ed. UFMG, 2013.

PORTUGAL. Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural. **Produtos Tradicionais com Origem Controlada: Apuramentos 2005**. 2007.

PRODROMOU, K. et al. Microbiology of “Orinotyri”, a ewe's milk cheese from the Greek mountains. **Food Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 319-328, 2001.

QUEIJOS NO BRASIL, 2015. **Queijo Pecorino**. Disponível em: <http://www.queijosnobrasil.com.br/portal/tudo-sobre-queijo/117-queijo-pecorino>. Acesso em: 04 maio 2017.

RAJBHANDARI, P.; KINDSTEDT, P. S. Characterization of calcium lactate crystals on Cheddar cheese by image analysis. **Journal of dairy science**, v. 91, n. 6, p. 2190-2195, 2008.

RAYNAL-LJUTOVAC, K. et al. Composition of goat and sheep milk products: An update. **Small ruminant research**, v. 79, n. 1, p. 57-72, 2008.

REVISTA BALDE BRANCO. **Queijos: produção e importação**. 2016. Disponível em: <http://www.baldebranco.com.br/queijos-produção-e-importação/> Acesso em: 05 maio 2017.

RIO GRANDE DO SUL. Portaria SEAPPA n° 214 de 14 de dezembro 2010. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Serrano ou Queijo Artesanal Serrano e dá outras providências**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2010.

RODRIGUES, L. do N. **Espectroscopia por FTIR de variedades híbridas de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratados para a produção de etanol celulósico**. 2012. 143f. Dissertação (Mestrado em física) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2012.

RODRIGUEZ-OTERO, J. L.; HERMIDA, M.; CENTENO, J. Analysis of dairy products by near-infrared spectroscopy: A review. **Journal of Agricultural and Food chemistry**, v. 45, n. 8, p. 2815-2819, 1997.

RODRIGUEZ-SAONA, L. E. et al. Rapid determination of Swiss cheese composition by Fourier transform infrared/attenuated total reflectance spectroscopy. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 5, p. 1407-1412, 2006.

ROHENKOHL, J. E. et al. O agronegócio de leite de ovinos e caprinos. **Indicadores Econômicos FEE**, v. 39, n. 2, p. 97-114, 2011.

SANZ SAMPELAYO, M. R. et al. Influence of type of diet on the fat constituents of goat and sheep milk. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 68, n. 1, p. 42-63, 2007.

SCHOLZ, W. **Elaboración de quesos de oveja y de cabra**. Zaragoza: Acribia, 1997. 145 p.

SCINTU, M. F.; PIREDDA, G. Typicity and biodiversity of goat and sheep milk products. **Small Ruminant Research**, v. 68, n. 1, p. 221-231, 2007.

SCOTT, R. **Cheesemaking operations. Milk as a raw material for cheese**. 2 ed. New York, Elsevier Applied Science Publishers, Cap. 6, p. 44-74. 1986.

SEVI, A.; ALBENZIO, M.; MARINO, R. et al. Effects of lambing season and stage of lactation on ewe milk quality. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 51, n. 3, p. 251-259, 2004.

SILVA, C. C. da. **Estudo da oferta de queijos de leite de ovelha e adequação da rotulagem dos produtos com a legislação vigente**. 2013. 67f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

SILVA, M. G. C. M. **Produção de caprinos**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. 56 p.

SILVA, P. H. F da; CARVALHO, M. C. L de. Determinação de nitrogênio em leite pelo método de Kjeldahl. **Rev Inst Latic Cândido Tostes**, v. 48, p. 30-6, 1993.

SMITH, P. A. M. Infrared microspectroscopy mapping studies of packaging materials: experiment design and data profiling considerations. **Vibrational Spectroscopy**, v. 24, n. 1, p. 47-62, 2000.

SMITH, B. C. **Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy**. 2 ed. Taylor & Francis Group, 2011.

SNABE, T.; PETERSEN, S. B. Application of infrared spectroscopy (attenuated total reflection) for monitoring enzymatic activity on substrate films. **Journal of biotechnology**, v. 95, n. 2, p. 145-155, 2002.

SOUSA, M. J.; ARDÖ, Y.; MCSWEENEY, P. L. H. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. **International Dairy Journal**, v. 11, n. 4, p. 327-345, 2001.

STUBBS, A.; ABUD, G.; BENCINI, R. **Dairy sheep manual: farm management guidelines**. Kingston: RIRDC, 2009. 69 p.

SUN, Da-Wen (Ed.). **Infrared spectroscopy for food quality analysis and control**. Academic Press, 2009.

TALEVSKI, G. et al. Quality of the sheep milk as a raw material in dairy industry of Macedonia. **Biotechnology in animal husbandry**, v. 25, n. 5-6-2, p. 971-977, 2009.

UPADHYAY, V. K. et al. Proteolysis in cheese during ripening. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**, v. 1, p. 391-VIII, 2004.

VANNINI, L.; BALDI, D.; LANCIOTTI, R. Use of Fourier transform infrared spectroscopy to evaluate the proteolytic activity of *Yarrowia lipolytica* and its contribution to cheese ripening. **International Journal of Food Microbiology**, v. 69, n. 1, p. 113-123, 2001.

VIEIRA, V. F. **Características físico-químicas e sensoriais de queijos Mussarela elaborados a partir de leites com diferentes contagens de células somáticas**. 2010. 71p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de alimentos) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, 2010.

WALSTRA, P.; JENNESS, R. **Dairy chemistry and physics**. John Wiley & Sons: New York, 1984. 423p.

WANG, X.; PALIWAL, K. K. Feature extraction and dimensionality reduction algorithms and their applications in vowel recognition. **Pattern recognition**, v. 36, n. 10, p. 2429-2439, 2003.

WEAVER, R. W. V. Near infrared reflectance analysis applied to dairy products. In: **Challenges to contemporary dairy analytical techniques: proceedings of a seminar organized by the Food Chemistry Group of the Royal Society of Chemistry...** University of Reading, England, March 28th-30th, 1984. London: Royal Society of Chemistry, 1984.

WENDORFF, B. Milk composition and cheese yield. In: **Great lakes dairy sheep symposium**, 2002, Ithaca. Proc ... Ithaca: Cornell University, 2002. p. 104-117.

WOLD, S.; ESBENSEN, K.; GELADI, P. Principal component analysis. **Chemometrics and intelligent laboratory systems**, v. 2, n. 1-3, p. 37-52, 1987.

WOLFSCHOON-POMBO, A. L.; LIMA, A. de. Extensão e profundidade de proteólise em queijo Minas Frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 44, n. 261-266, p. 50-52, 1989.

WU, D. et al. Study on infrared spectroscopy technique for fast measurement of protein content in milk powder based on LS-SVM. **Journal of Food Engineering**, v. 84, n. 1, p. 124-131, 2008.

ZAMIRI, M. J.; QOTBI, A.; IZADIFARD, J. Effect of daily oxytocin injection on milk yield and lactation length in sheep. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 40, n. 2, p. 179-185, 2001.