

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO SUL DE
MINAS GERAIS - IFSULDEMINAS**

Maurílio Vieira da Rocha

**INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO
(*Cymbopogon citratus*) NA PRODUÇÃO DE QUEIJO *PETIT SUISSE*.**

**Machado - MG
2018**

Maurílio Vieira da Rocha

**INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO
(*Cymbopogon citratus*) NA PRODUÇÃO DE QUEIJO *PETIT SUISSE*.**

Dissertação apresentada ao IFSULDEMINAS,
como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, para a obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Délcio Bueno da Silva

**Machado - MG
2018**

R574i Rocha, Maurílio Vieira da.

Influência da adição do óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus*) na produção de queijo *Petit suisse* / Maurílio Vieira da Rocha. -- Machado: [s.n.], 2018.

48 p. : il.

Orientador: Prof. Dr. Délcio Bueno da Silva.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Campus Machado.

Inclui bibliografia

1. Queijo. 2. Alimentos funcionais. 3. Capim-limão. 3. Óleos essenciais. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais. II. Título.

CDD: 637.35

Maurílio Vieira da Rocha

**INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM LIMÃO
(*Cymbopogon citratus*) NA PRODUÇÃO DE QUEIJO *PETIT SUISSE*.**

Dissertação apresentada ao IFSULDEMINAS,
como parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, para a obtenção do
título de Mestre

APROVADA em 28 de fevereiro de 2018

Prof^a. Dr^a. Bianca Sarzi de Souza
IFSULDEMINAS

Prof^a. Dr^a. Taís Carolina Franqueira de
Toledo Sartori
IFSULDEMINAS

Prof. Dr. Délcio Bueno da Silva
IFSULDEMINAS

Aos meus pais, Adelino e Euny, que, mesmo tendo frequentado muito pouco os bancos de uma escola, não mediram esforços para me proporcionar uma educação digna. Me ensinaram, dentre milhares de outras coisas que, como disse um dia Monteiro Lobato, “*um país se faz com homens e livros*”.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à Deus, por todas as bênçãos que Ele tem proporcionado em minha vida.

À minha família, e em especial à Simone Cristina, que compreendeu que minha ausência, além do normal, durante esse tempo estava sendo por uma causa digna.

Ao meu filho, Igor, por ter compreendido que meu “enclausuramento” no escritório durante a etapa final do experimento, não era uma desculpa para não auxiliá-lo na condução dos serviços da casa. Amo você, filho.

Aos gestores do IFSULDEMINAS, que colocam o aluno como prioridade e mantêm sempre o foco em fornecer, antes de tudo, uma educação de qualidade. Agradecimento especial à equipe da CGPP, Lucas Alberto Teixeira de Rezende e Mauro Barbieri. Muito obrigado pela confiança e pelo incentivo.

Aos professores do curso, Dr^a. Aline Manke Nachtigall, Dr^a. Bianca Sarzi de Souza, Dr^a. Brígida Monteiro Vilas Boas, Dr. Délcio Bueno da Silva, Dr. João Paulo Martins, Dr. José Antônio Dias Garcia, Dr. Leandro Carlos Paiva, Dr^a. Sandra Maria Oliveira Moraes Veiga, Dr^a. Sandra Maria Pinto e Dr^a. Kátia Alves Campos. Obrigado por compartilhar do vasto conhecimento de forma tão carinhosa e eficiente, fazendo com que nos sentíssemos não como meros alunos, mas sim como verdadeiros amigos.

Ao Médico-veterinário Prof. Dr. Guilherme Oberlender, pelo apoio e pelas valiosas opiniões durante o decorrer dos trabalhos.

À equipe de colaboradores do IFSULDEMINAS que sempre se mostrou disposta à colaborar na condução dos trabalhos em todas as etapas do experimento. Agradecimentos mais do que especiais aos técnicos em alimentos lotados no Complexo Agroindustrial do IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho, Júlio César Moisés, Marcos César Assis Vieira, Mateus Evandro Ramos, Paulo Otávio Miranda, Paulo Sérgio Martins e Rafael Moreira da Silva. Muitíssimo obrigado pelo apoio de sempre.

Aos amigos Bruna Teodoro Barbosa, Danielle A. Quintino Silva Sarto, Dayla Badann Bueno, Janaína de Paiva Paula Barroso, Leilane Lima Gomes, Maria Clara Nanetti Dias Moreira, Mariana Pereira Rezende de Maciel, Poliana de Faria Cardoso Abrão, Talita Amparo Tranches Cândido, Cleuton José Moraes, Joyce Alves de Oliveira, Karine de Paula Caproni e Thalita Caroline Silva Brigagão, colegas da turma que durante todo o tempo de convívio fizeram com que a relação entre nós se tornasse um “combustível extra” para nos dedicarmos mais e mais, não deixando que os obstáculos encontrados superassem nossa vontade de atingirmos nossa meta.

À bióloga e mestre em Sistemas de Produção na Agropecuária, Jéssica Azevedo Batista e também à aluna do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, Téc. em Alimentos Letícia Ruzzi, pela imensa colaboração durante os trabalhos de extração do óleo essencial no laboratório de Biotecnologia do IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho.

À equipe de alunos do curso Bacharelado em Medicina Veterinária, Isaac Buscaratti Martins Ribeiro, Thalita Cândido Justimiano e Jonathas Nathan Veloso que foram fundamentais na condução dos trabalhos durante as etapas que aconteceram no laboratório de Bromatologia do IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho.

Aos servidores da secretaria de pós-graduação do IFSULDEMINAS – Campus Machado, que contribuíram, desde os primórdios do curso, para que o mesmo se tornasse cada vez melhor, Méd. Veterinário José Reinaldo Berin, Dayanna Martins de Carvalho e Maria Beatriz Gandini Bittencourt de Oliveira.

À todos que colaboraram, direta ou indiretamente, com o fornecimento ou até mesmo com a informação sobre onde encontrar a matéria prima Capim-Limão. Dentre estes destaco minha mãe, meu filho Igor, o Sr. João, responsável pela feira livre da cidade de Muzambinho, a Letícia Ruzzi e a Estela Giani.

Ao Sr. Chrystóvam Curty, um dos maiores profissionais da indústria de laticínios do país, com o qual tive a honra de aprender muito e que foi lembrado por mim por inúmeras vezes durante a condução do experimento, por ter ouvido muito da parte dele, como membro de sua equipe por alguns anos, algumas máximas relacionadas à Gestão de Processos e à Gestão da Qualidade, dentre muitas destas destaco:

1ª) *“Até é possível fabricar um produto ruim partindo de matéria prima de boa qualidade, mas é impossível fabricar produtos bons com matéria prima de qualidade inferior”.*

2ª) *“Para produzir produtos lácteos de qualidade; além de matéria prima, materiais, máquinas e mão de obra de qualidade; é preciso Higiene, Mais Higiene e Absoluta Higiene”*

Ao meu orientador, Prof. Dr. Délcio Bueno da Silva, pelo exemplo de profissionalismo, pela paciência e entusiasmo ao transmitir seu amplo conhecimento a nós, alunos.

À Professora Drª. Taís Carolina Franqueira de Toledo Sartori, que muito gentilmente aceitou o convite da coordenação para compor a banca examinadora. O meu muitíssimo obrigado.

Ao Médico-Veterinário, Prof. Dr. Jorge Rubinich (*in memoriam*). Grande parte do que se faz hoje na área de qualidade na indústria de produtos de origem animal do Brasil se deve a este homem. Atuando como professor da Escola de Veterinária da UFMG, como presidente do Conselho Regional de Medicina Veterinária – MG, como presidente do Conselho Federal de Medicina Veterinária ou como consultor na iniciativa privada, conduziu as mudanças necessárias para que os produtos de origem animal, em especial o leite, atingisse um patamar digno de qualidade. Nos diversos rincões, onde íamos levar conhecimento aos diversos envolvidos para a produção de leite de qualidade, ele cativava as pessoas de uma forma que jamais esquecerei. Aprendi com ele, dentre tantas outras coisas, que para termos sucesso nos projetos de extensão precisamos “falar a língua” do produtor rural. Me orgulho de ter obtido êxito em muitos projetos que conduzi como discípulo e parceiro do saudoso Dr. Jorge Rubinich.

Como sempre costumo dizer: - *“Por nossas vidas passam familiares que não escolhemos, colegas de trabalho que não escolhemos, colegas de escola que não escolhemos e muitas outras pessoas em clubes, condomínios, igreja, etc., que também não escolhemos. Mas cabe a nós, de acordo com os sinais enviados de nossos corações, em resposta à energia recebida dessas pessoas, escolher dentre esses os que comporão nossa rede de amigos”.* Tenho certeza que todos os que foram listados acima estão e estarão sempre na minha lista de amigos.

“Não se gerencia o que não se mede, não se mede o que não se define, não se define o que não se entende, não há sucesso no que não se gerencia. Não se melhora o que não se mede. Acredito em Deus, todos os outros devem apresentar dados e fatos.”

Willian Edward Deming

RESUMO

O desenvolvimento de produtos considerados funcionais tem ganhado espaço nas gôndolas pelas demandas crescentes de apelo por uma alimentação saudável. O lançamento de produtos lácteos enriquecidos com ingredientes funcionais é uma estratégia da indústria, devido à sinergia entre esses produtos e diversos ingredientes considerados funcionais. Os queijos podem ser base para produtos funcionais, por meio da adição de bactérias probióticas e/ou da adição de ingredientes funcionais prebióticos. Probióticos são microrganismos vivos capazes de melhorar a microbiota intestinal produzindo benefícios ao organismo humano. Prebióticos e Simbióticos podem ser quaisquer ingredientes que apresentem ação metabólica específica. No entanto, a escassez de metodologias laboratoriais para quantificação de nutrientes funcionais e, conseqüentemente, comprovação da propriedade funcional alegada no rótulo do produto, tem sido uma preocupação tanto pelas indústrias de alimentos quanto pelos órgãos fiscalizadores. As técnicas de cromatografia são utilizadas com ótima performance para análises de diversos compostos químicos em concentrações que podem chegar até a ordem de partes por trilhão (ng.Kg^{-1}). O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da adição do óleo essencial de capim-limão, que contém a substância bioativa Citral, classificado como prebiótico, nas características físico-químicas, microbiológicas e reológicas do queijo *Petit Suisse*. Foram produzidas cinco formulações diferentes de queijo *Petit Suisse*, com concentrações de óleo essencial variando de 27 até 215 mg.L^{-1} , além da formulação padrão sem a presença do óleo essencial. Os parâmetros avaliados após 1, 15, 30 e 45 dias de armazenamento em câmara fria a 10°C , incluíram o pH, a umidade, o teor de cinzas, o teor de proteína, o teor de gordura, a viscosidade e as contagens de bactérias lácticas, de coliformes, de *S. aureus* coagulase positiva e de leveduras e fungos filamentosos. Para a determinação e quantificação da substância bioativa Citral foi utilizada a técnica de cromatografia gasosa com detector FID, após preparo da amostra de acordo com metodologia analítica desenvolvida durante o experimento. O delineamento estatístico utilizado foi o do tipo inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial duplo 6×4 . O pH médio aos 45 dias em todas as concentrações foi ligeiramente menor que o pH médio das amostras analisadas. Tanto os outros parâmetros físico-químicos avaliados quanto a viscosidade, não apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$). Como melhor indicador da influência ou não da adição do óleo essencial na flora microbiana do produto, analisou-se principalmente as contagens de Bactérias Lácticas, cujos resultados não demonstraram inibição ou estímulo influenciado pela adição do óleo essencial. Foram realizadas ainda, as contagens de Coliformes, *S. aureus* e Leveduras e Fungos filamentosos e os resultados destas análises microbiológicas também não demonstraram diferenças significativas. O procedimento analítico desenvolvido durante o experimento para confirmação das concentrações de Citral nas amostras de queijo *Petit Suisse* se mostrou preciso, repetível e robusto, podendo ser, portanto, utilizado na rotina dos laboratórios de controle de qualidade para a análise instrumental do analito Citral. Os dados analíticos obtidos foram submetidos às análises estatísticas e, com base nestes resultados, pode-se concluir que não houve interferência significativa da adição de óleo essencial nas características principais do queijo *Petit Suisse*.

Palavras-chave: Antioxidante. Antirradicais livres. Cromatografia. Funcional. Lácteo.

ABSTRACT

The development of products considered functional has gained space in the gondolas by the increasing demands of a healthy diet. The launch of dairy products enriched with functional ingredients is an industry strategy, due to the synergy between these products and several ingredients considered functional. Cheeses may be base for functional products, by the addition of probiotic bacteria and/or the addition of prebiotic functional ingredients. Probiotics are living microorganisms capable of improving the intestinal microbiota producing benefits to the human organism. Prebiotics and Symbiotics can be any ingredients that have a specific metabolic action. However, the scarcity of laboratory methodologies for quantification of functional nutrients and, consequently, evidence of alleged functional property on the product label has been a concern both for the food industry and for the enforcement agencies. Chromatography techniques are used with excellent performance for analysis of various chemical compounds in concentrations that can reach the order of parts per trillion (ng.Kg^{-1}). The objective of this work was to evaluate the influence of the addition of lemon grass essential oil, which contains the bioactive substance, classified as prebiotic, in the physico-chemical, microbiological and rheological characteristics of Petit Suisse cheese. Five different formulations of *Petit Suisse* cheese were produced, with essential oil concentrations varying from 27 to 215 mg.L^{-1} , in addition to the standard formulation without the presence of the essential oil. The parameters evaluated after 1, 15, 30 and 45 days of storage in a cold room at 10 °C included pH, humidity, ash content, protein content, fat content, viscosity and lactic bacteria, coliforms, coagulase positive *S. aureus* and yeasts and filamentous fungi. For the determination and quantification of the Citral bioactive substance the gas chromatography technique with FID detector was used after preparation of the sample according to analytical methodology developed during the experiment. The statistical design was completely randomized (DIC) in a 6 x 4 double factorial scheme. The mean pH at 45 days at all concentrations was slightly lower than the mean pH of the analyzed samples. Both the other physicochemical parameters evaluated and the viscosity did not present significant differences ($P < 0.05$). As a better indicator of the influence or not of the addition of the essential oil to the microbial flora of the product, the Lactic Bacteria counts were analyzed, the results of which showed no inhibition or stimulation influenced by the addition of the essential oil. The counts of Coliforms, *S. aureus* and yeasts and filamentous fungi were also performed and the results of these microbiological analyzes also did not show significant differences. The analytical procedure developed during the experiment to confirm Citral concentrations in the Petit Suisse cheese samples was accurate, repeatable and robust and could therefore be used in the routine of the quality control laboratories for the instrumental analysis of the Citral analyte. The analytical data were submitted to statistical analyzes and, based on these results, it can be concluded that there was no significant interference of the addition of essential oil in the main characteristics of *Petit Suisse* cheese.

Key-words: Antioxidant. Chromatography. Dairy. Free radicals scavenger. Functional foods.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	11
1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 ALIMENTOS FUNCIONAIS.....	13
2.2 CAPIM-LIMÃO.....	14
2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS	15
2.4 CITRAL	18
2.5 QUEIJO <i>PETIT SUISSE</i>	20
2.6 CROMATOGRAFIA	22
REFERÊNCIAS	24
CAPÍTULO 2	28
INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO NA PRODUÇÃO DE QUEIJO <i>PETIT SUISSE</i>	28
RESUMO.....	28
ABSTRACT	28
INTRODUÇÃO.....	29
MATERIAL E MÉTODOS	31
Obtenção do óleo essencial.....	31
Produção do queijo <i>Petit Suisse</i> adicionado de óleo essencial de capim-limão	33
Análises laboratoriais	36
Análises estatísticas	37
RESULTADOS	38
DISCUSSÃO	44
CONCLUSÕES.....	46
REFERÊNCIAS.....	47

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A ruptura da ideia de que a saúde e a medicina estavam ligadas estritamente a dogmas religiosos iniciou-se na Grécia antiga com Hipócrates, considerado hoje o pai da medicina. A expressão “*Que seu alimento seja seu remédio e que seu remédio seja seu alimento*”, de sua autoria, sempre esteve à frente de muitas pesquisas na área da ciência dos alimentos, em maior ou menor intensidade, recebendo influências dos diversos modismos, muito comum na área nutricional. No entanto, o uso de alimentos benéficos à saúde, também conhecidos como funcionais, ganhou força no final do século passado, quando o mundo voltou os olhares para o Japão, enquanto os japoneses deram uma grande ênfase a um grupo de alimentos que foi “batizado” de FOSHU (*Food for specified health use*). A pesquisa e desenvolvimento de ingredientes benéficos à saúde, chamados também de substâncias bioativas, fez com que a indústria de alimentos reformulasse sua estratégia de atuação, assim como ocorreu no século passado com a indústria farmacêutica (BRASIL, 2002).

As plantas medicinais, de um modo geral, são ministradas ao paciente sob as formas de infusões, chás ou concentrados. O capim-limão (*Cymbopogon citratus* DC. Stapf), também conhecido como capim-cidreira, erva-cidreira, chá-de-estrada, capim-santo, capim-de-cheiro, dentre inúmeros outros nomes, é muito usado empiricamente na medicina popular devido tanto à facilidade de obtenção desta planta, como também aos inúmeros benefícios como medicamento fitoterápico. Dentre as inúmeras propriedades terapêuticas do capim-limão, destaca-se a atividade antioxidante e anticarcinogênica, em função do composto fitoquímico Citral, que é o principal componente do óleo essencial desta planta (ARAÚJO, 2015). Agentes oxidantes podem ser utilizados no processamento de alimentos, tais como o peróxido de hidrogênio utilizado na indústria frigorífica e na de laticínios ou o peróxido de benzoíla utilizado no clareamento de farinhas de cereais e aparecerem como resíduos contaminantes nos mesmos. Podem ainda ser formados de forma endógena nos alimentos. Esses compostos formados de forma endógena são conhecidos como radicais livres (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Óleos essenciais de plantas contêm a grande maioria dos compostos considerados benéficos à saúde e sua utilização como substância bioativa tem sido estudada tanto na área de alimentos, quanto na área da saúde. O óleo essencial do capim-limão possui, dentre outros, os compostos fitoquímicos Geranial e Neral, conhecidos também como Citral A e Citral B,

respectivamente, e que juntos formam o composto majoritário Citral, de maior importância como substância bioativa (ARAÚJO, 2015). Uma das formas mais comuns para a obtenção desses fitoquímicos é a técnica de separação via arraste a vapor extraíndo o óleo.

Dentre os alimentos utilizados como base para funcionais, os produtos lácteos, principalmente iogurtes e queijos, têm sido preferidos devido à sinergia entre estes e às diversas substâncias bioativas. O queijo *Petit Suisse* é um queijo fresco, obtido por coagulação do leite por meio de enzimas específicas ou ácidos específicos ou bactérias específicas. É um produto lácteo destinado quase que exclusivamente ao público infantil devido, principalmente, aos teores de proteína e cálcio. A oferta deste produto nas gôndolas tem crescido muito em função da possibilidade de fabricação deste por empresas de qualquer porte.

Apesar da sinergia favorável que faz com que diversos grupos de produtos de laticínios sejam utilizados como base para alimentos funcionais, o mesmo não se pode dizer sobre o controle de qualidade a que esses produtos precisariam ser submetidos, para confirmação e quantificação da substância bioativa no produto final ofertado ao consumidor. O desenvolvimento de metodologias laboratoriais para detecção e quantificação de nutrientes funcionais tem se tornado uma busca constante nos laboratórios dos órgãos de fiscalização devido ao fato de que muitos destes ingredientes funcionais e seus analitos não possuem uma metodologia analítica regulamentada. As técnicas instrumentais de análise, dentre estas, as técnicas cromatográficas apresentam ótima performance para análises de diversos compostos químicos em concentrações que podem chegar à limites de detecção da ordem de ng.Kg^{-1} (ppb – partes por bilhão). A cromatografia colunar é uma metodologia de separação de compostos acoplada a um sistema de identificação pós-separação, e pode ser classificada basicamente em cromatografia líquida e cromatografia gasosa. Para a confirmação da concentração do composto Citral, que é quem caracteriza o queijo *Petit Suisse* como alimento funcional, foi utilizada a técnica de cromatografia gasosa acoplada a um detector de chama. O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da adição do óleo essencial extraído do capim-limão, nas características físico-químicas, microbiológicas e reológicas do queijo *Petit Suisse*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Alimentos funcionais

Há mais de 30 anos já se sabe da importância de se utilizar a estratégia de “diferenciação”, no que diz respeito a lançamentos de produtos, cujo foco é o de não abastecer as gôndolas com produtos considerados *commodities* (PORTER, 1986). Exceção a esse posicionamento se faz quando a empresa opta por trabalhar somente com produtos de baixo custo, direcionados às pessoas de “baixa renda”, atuando com a estratégia de “custo”. Na indústria de alimentos produtos diferenciados podem ser entendidos como os produtos naturais, revigorantes e calmantes naturais, preventivos à saúde gastrointestinal, produtos com características antioxidantes, fortificados, etc. (FIESP/ITAL, 2010).

O organismo humano recebe influências a todo o momento do ambiente, das moléculas com predisposição cancerígenas de alguns alimentos, além de ser influenciado diretamente pelo uso de hormônios e drogas e pelo sedentarismo. Esses fatores modificam desfavoravelmente o metabolismo de algumas células, promovendo nestas o processo de surgimento do câncer (BATISTON et al., 2011). O aumento no número de incidências de casos de câncer, situação em que a célula se encontra anômala em relação às demais saudáveis, resulta de condições endógenas e ambientais. No entanto, destaca-se que o fator primordial desse aumento está diretamente relacionado a uma alimentação inadequada (TARTARI; BUSNELLO; NUNES, 2009).

A correlação entre dieta e saudabilidade que mais causou alvoroço no meio acadêmico foi o estudo realizado em 1819 pelo médico irlandês Samuel Black. Neste trabalho foi demonstrado que, apesar do consumo excessivo de gorduras saturadas, oriundas dos queijos, dos patês e das manteigas, os franceses sofriam pouco de aterosclerose. Esse trabalho, apesar de ter sido realizado há dois séculos, ainda hoje é conhecido mundialmente como o “Paradoxo Francês”. Em 1991, um estudo realizado pela Universidade de Bordeaux com 34 mil indivíduos demonstrou que uma das possíveis causas que colocavam os franceses como a população com menor incidência de problemas cardiovasculares do mundo, poderia ser o consumo moderado de vinho juntamente com as refeições (SALGADO, 2017).

A dieta perfeita tem sido abordada mais intensamente juntamente com a questão dos alimentos que proporcionam benefícios à saúde, bem como o sentimento de bem-estar. Esta característica do alimento melhorar significativamente a dieta incluindo benefícios, além de simplesmente nutrir, tem sido abordada frequentemente em lançamentos de produtos alimentícios no mundo inteiro após surgir como “onda” no Japão, em meados da década de 80

do século passado, com o lançamento de produtos denominados FOSHU (*Food for Specified Health Use*). A indústria de alimentos, desde o final do século passado, tem procurado lançar no mercado produtos de maior valor agregado. O consumidor, por sua vez, já não se satisfaz em adquirir produtos alimentícios que não ofereçam, além da função principal de saciar sua necessidade fisiológica da fome ou da sede, algum outro sentimento relacionado ao aspecto sensorial e ou à nutrição extra. O aspecto saudabilidade e bem-estar deve ser priorizados como os itens mais importantes nos planejamentos estratégicos das indústrias alimentícias do país (FIESP/ITAL, 2010).

No Brasil, esses alimentos são conhecidos como funcionais e se referem aos alimentos com ingredientes que auxiliam em funções metabólicas específicas do corpo, além de nutritivos por si só (OLIVEIRA; ROMAN, 2013). Esses ingredientes, que permitem que o alimento seja considerado funcional, também são conhecidos como substâncias bioativas. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa, define substância bioativa como sendo os nutrientes e os não nutrientes que possuam ação metabólica ou fisiológica específica. Atualmente, incluem-se nesta categoria de substâncias bioativas os Carotenoides, os Fitoesteróis, os Flavonoides, os Fosfolipídios, os Organosulfurados e os Polifenóis (BRASIL, 2002).

Os ingredientes bioativos já reconhecidos pela Anvisa são os Ácidos Graxos (Ômega 3, 6 e 9); os Carotenoides (Licopeno, Luteína e Zeaxantina); as Fibras alimentares (Inulina, Beta-glucana, Fruto-oligossacarídeo, Polidextrose, Quitosana); os Fitoesteróis; os Polióis (Manitol, Xilitol e/ou Sorbitol) e os Probióticos (Microrganismos diversos dos gêneros *Lactobacillus* sp, *Bifidobacterium* sp, *Lactococcus* sp, etc.). No entanto, ainda não são reconhecidas pela Anvisa substâncias bioativas como o Citral, além de muitas outras substâncias (BRASIL, 2002).

2.2 Capim-limão

O capim-limão (*Cymbopogon citratus* DC. Stapf), conhecido no Brasil por dezenas de nomes, dentre estes capim-santo e capim-de-cheiro é muito utilizado empiricamente como medicamento fitoterápico na medicina popular devido às suas propriedades terapêuticas como febrífugo, ansiolítico, antitérmico, antiespasmódico, antipirético, anti-histérico, analgésico, hepatoprotetor, calmante, antirreumático, antidepressivo, diurético, estimulante da circulação, anticonvulsivante, expectorante, estimulante digestivo, dentre inúmeras outras propriedades funcionais (ALMASSY JR. et al., 2005). Os europeus o chamam de capim-da-febre, devido à sua ação como antitérmico, sendo usado ainda como relaxante muscular, prisão de ventre e

regulador da pressão arterial (STEFFEN, 2010).

As plantas medicinais, de um modo geral, são utilizadas sob as formas de infusões, chás ou concentrados. Pertencente à família *Poaceae*, o capim-limão ainda é muito confundido com a Melissa (*Melissa officinalis*) e com a erva-cidreira de arbusto (*Lippia alba*), que apesar de pertencerem às famílias diferentes do ponto de vista taxonômico, possuem compostos fitoquímicos semelhantes que podem ser extraídos por meio de operações de concentração (ALMASSY JR. et al., 2005). Estudos realizados em ratos demonstraram a eficácia do capim-limão na melhoria da qualidade e duração do sono e com propriedades anticonvulsivantes (BLANCO et al., 2009).

O uso de plantas como agentes fitoterápicos se deve à presença de compostos fitoquímicos que são, em sua maioria, lipossolúveis e podem ser extraídos da planta sob a forma oleosa. Estes óleos são armazenados fisiologicamente na planta em estruturas intra ou intercelulares, denominados canais e bolsas que podem estar localizados em flores (laranja), folhas (capim-limão), sementes (noz-moscada), caules (canelas, pau-rosa), raízes (vetiver), rizomas (cúrcuma) ou frutos (erva-doce) (BANDEIRA, 2000).

2.3 Óleos essenciais

A tendência dos consumidores em exigir no seu dia-a-dia produtos voltados para o aspecto “naturalidade” tem favorecido a utilização de óleos essenciais como ingredientes funcionais em diversos alimentos (MARTINAZZO et al., 2007). Muitos vegetais apresentam em sua composição alguns compostos que normalmente não são utilizados no metabolismo vital, tais como fotossíntese e respiração, da planta. Alguns desses compostos, basicamente divididos em terpenos, compostos fenólicos e produtos nitrogenados (ARAÚJO, 2015) são considerados pela legislação vigente como substâncias bioativas (BRASIL, 2002).

O óleo extraído do capim-limão é um dos mais conhecidos e comercializados mundialmente devido ao fato de ser utilizado como matéria-prima nas indústrias farmacêuticas (MARTINS et al., 2004) e ainda na indústria de alimentos, na agricultura e na indústria de produtos de higienização (BAKKALI et al., 2008).

No Brasil o óleo de capim-limão (*Lemongrass*) é produzido principalmente na Região Nordeste do Brasil e tem como maiores usuários as indústrias químicas e farmacêuticas que o utilizam como base para produção dos derivados do Citral, principal composto fitoquímico do capim-limão. Dentre esses derivados as Alfa-metil-Iononas e as Isometil-Iononas são utilizadas pelas indústrias de alimentos para produção de bebidas não alcoólicas, gelatinas, pudins, sorvetes, etc. Por outro lado, a Pseudo-ionona é utilizada na

indústria de aromatizantes, além de outros compostos utilizados para síntese de Vitamina A (CRAVEIRO; QUEIRÓZ, 1993).

A extração dessas substâncias bioativas, também conhecidas como fitoquímicos, pode ocorrer por meio de diversas técnicas. As mais comuns são o uso de solventes orgânicos, a prensagem a frio (ou esmagamento), a “*Enfleurage*”, a extração com CO₂ supercrítico e a destilação com arraste a vapor.

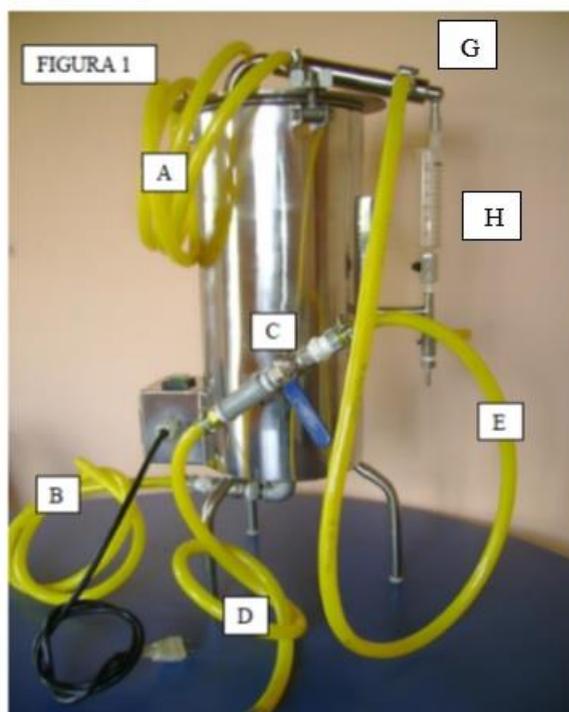
O esmagamento, que é muito utilizado para extração de óleos de frutas cítricas, se baseia na prensagem dos frutos e separação da camada que contém o óleo com posterior decantação ou centrifugação da emulsão (PEREIRA, 2010). A *Enfleurage*, que é outra técnica de obtenção de óleos essenciais, se baseia na utilização de gordura inodora em contato com o vegetal para que essa absorva as fragrâncias específicas da espécie vegetal em questão (BANDEIRA, 2000). A utilização de solventes orgânicos para extração de óleos essenciais contendo a substância bioativa, geralmente é utilizado quando se trabalha com plantas aromáticas destinadas à indústria de aromas e cosmética. A desvantagem desse método consiste no fato de que não só os óleos desejáveis são extraídos. Assim necessita-se de outra operação para purificação do composto que se deseja obter (PEREIRA, 2010). A extração com o CO₂ supercrítico é a técnica que utiliza o poder solvente do dióxido de carbono em condições críticas de pressão (73,8 bars) e temperatura (31,1 °C) adequadamente reguladas no processo (ARAÚJO, 2015).

O equipamento de destilação com arraste a vapor, demonstrado na Figura 1, é o método mais empregado e produz a emulsão de óleo essencial e hidrolato. A purificação do óleo, que é o produto mais nobre do processo, pode ser realizada por meio de processos de operações unitárias como centrifugação, decantação ou extração com solvente (OLIVEIRA; JOSE, 2007).

No arraste com vapor o óleo essencial extraído por destilação, contém alguns dos componentes aromáticos e bioativos da espécie vegetal inserida na dorna do destilador. O vapor quando condensa em forma de água, retém pequenas quantidades de óleo em água (ALVIS; MARTINEZ; ARRAZOLA, 2012).

Os compostos fitoquímicos responsáveis pelas propriedades características tanto do capim-limão, quanto da melissa (*Melissa officinalis*) e da erva cidreira-verdadeira (*Lippia alba*) são, principalmente, o geranial e o neral. A combinação destes dois compostos formam o composto denominado Citral. A concentração de Citral no capim-limão, assim como nas diversas outras fontes, pode variar de acordo com a idade da planta, a época do ano, o modo de cultivo, a região de plantio, dentre outras condições edafoclimáticas (BRITO et al., 2011).

Figura 01 – Aparelho de extração via arraste de vapor instalado no laboratório de Biotecnologia do IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho.



A – Saída de água pós-condensador; **B** – Saída de água da dorna (utilizada somente após a extração no processo de esvaziamento da dorna); **C** – Dorna, onde é colocada a matéria verde para extração; **D** – Entrada de água para a dorna; **E** – Entrada de água para resfriamento no condensador; **G** – Condensador; **H** – Coletor do óleo essencial.

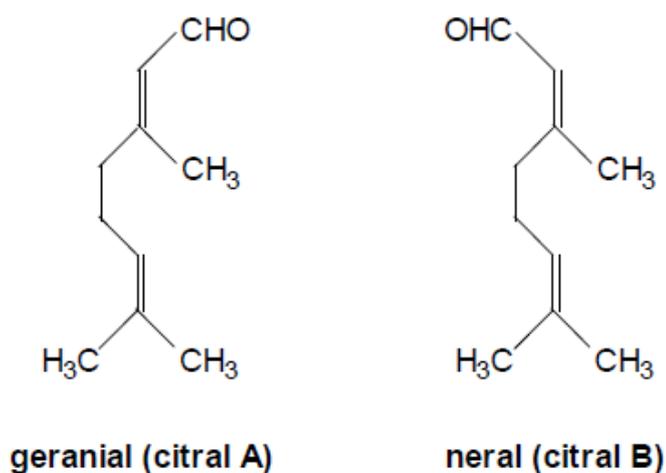
Oliveira et al. (2011) ao quantificar via cromatografia o óleo essencial de capim-limão encontrou teores de Citral de 73,83%. Pereira (2010), em um trabalho para avaliar a eficácia do óleo essencial de capim-limão como antimicrobiano encontrou uma concentração de Citral de 72,34g/100g de óleo. Para a comprovação da capacidade antioxidante das diversas substâncias bioativas já existem várias metodologias laboratoriais e dentre estas podem ser citadas como mais utilizadas as metodologias Folin Ciocateau, a DPPH – determinação espectrofotométrica da captura radicalar, a TRAP – determinação espectrofluorimétrica da captura radicalar e a ORAC – Oxigen Radical Absorption Capacity. Em muitas dessas técnicas um dos padrões mais usados é o ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico, conhecido com o nome comum de Trolox (BOROSKY et al., 2015). Sacchetti et al. (2005), avaliando a atividade antioxidante, ou seja, que combate os radicais livre, trabalhando com um óleo essencial contendo 73,58g Citral/100g de óleo, demonstrou que o óleo essencial de capim-limão possui uma atividade de $23,3 \pm 0,30$ mTE/L (mmol de Trolox equivalente por litro).

Rodrigues et al. (2011), pesquisaram a eficiência do hidrolato de capim-limão como

agente fungitóxico em culturas do fungo *Phytophthora* sp, que é o agente etiológico da requeima do tomateiro, adicionando-o diretamente às placas de petri já inoculadas e encontraram uma eficiência do hidrolato a 15% como inibidor do crescimento dessa cultura de fungo. As pesquisas com estes produtos requerem atenção minuciosa, pois o efeito anti-helmíntico do hidrolato de hortelã (*Mentha villosa* Huds.), em nematoides gastrointestinais de bovinos, em um experimento em 2009, por exemplo, apresentou resultados positivos nos testes *in vitro*, mas não ocorrendo a mesma eficácia anti-helmíntica desse hidrolato de hortelã nos animais tratados (NASCIMENTO et al., 2009).

2.4 Citral

O Citral, substância bioativa pertencente à classe dos monoterpenos, presente no óleo essencial de capim-limão em concentrações que podem variar entre 65 e 85% (VILLAVERDE et al., 2013), possui a nomenclatura na IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry* como 3,7-dimethyl-2,6-octadieno, que é a mistura isomérica de Geranial (Citral A) e Neral (Citral B). As fórmulas estruturais das substâncias Geranial e Neral estão na Figura 2. A fórmula química do Citral é $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CHCHO}$ e sua massa molecular é 152,24. É um líquido amarelo claro, praticamente insolúvel em água, mas solúvel em solventes orgânicos, etanol e glicerol (ANVISA, 2010).

Figura 2 – Fórmulas estruturais do geranial e do neral.

Fonte: Araújo (2015).

É bastante requisitado pelas indústrias de aromas, cosméticos, alimentos e química para síntese de compostos importantes, dentre esses destaca-se a vitamina A (GUIMARÃES et al., 2011).

Ravinder et al. (2010), realizaram estudos comprovando que a substância bioativa Citral atua tanto como antioxidante no combate aos radicais livres, como também na prevenção de diversos tipos de câncer. O Citral ainda possui efeitos benéficos na prevenção de tumores de pele em camundongos, e apresenta ação anti-inflamatório, inibindo a formação do radical livre óxido nítrico. Apresenta também atividade quimiopreventiva, pelo fato de alterar a disponibilidade de drogas metabolizadas por enzima do citocromo P450 (BIDINOTTO, 2009).

Alvis, Martinez e Arrazola (2012), comprovaram a eficácia do extrato hidroalcoólico de Capim-limão na dosagem de 250 mg.L⁻¹ como antioxidante na estabilização de gorduras, demonstrando ser uma alternativa na indústria cárnea para a produção de embutidos e produtos curados.

A apoptose, que é um processo natural de morte celular e útil na regeneração de tecidos auxiliando a homeostase, é um parâmetro bastante utilizado para estudos de verificação da interrupção do crescimento de células *in vitro*. Esse processo se torna ainda mais relevante em condições patológicas como o câncer (ANAZETTI; MELO, 2007). A estaurosporina que é o medicamento utilizado como referência para os testes de apoptose via atividade da protease Caspase-3 atuando na segmentação do DNA, foi usada como padrão de referência para testes com a substância bioativa Citral realizados na Universidade de Ben Gurion, em Israel. Estes estudos demonstraram a equivalência preventiva entre uma dosagem

de estaurosporina em uma concentração de 0,7 μM com 22,25 μM de Citral, equivalente a 3,382 mg de Citral (DUDAI et al., 2005).

2.5 Queijo *Petit Suisse*

O queijo é o nome genérico para uma categoria de produtos lácteos produzidos por meio de diversas tecnologias, com diferentes texturas, formatos e sabores. Nestas tecnologias de fabricação diversificada há o fato comum da transformação do leite líquido em uma massa sólida (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011). A utilização de produtos lácteos como base para ingredientes funcionais já tem sido uma estratégia adotada pela indústria de laticínios, tendo em vista a sinergia entre esta categoria de matéria-prima e diversos ingredientes considerados funcionais. Os queijos podem ser base para produtos funcionais, por meio da adição de bactérias benéficas e/ou da adição de ingredientes funcionais (OLIVEIRA, 2009).

O regulamento técnico de identidade e qualidade de queijo *Petit Suisse* (BRASIL, 2000) permite que seja utilizado tanto enzimas (como coalho, por exemplo) quanto bactérias específicas para obtenção da massa base do produto. As bactérias lácticas, ou como são mais conhecidas bactérias ácido-láticas, é um grupo de bactérias pertencentes a diversos gêneros, que têm em comum características semelhantes quanto à fermentação de diferentes produtos alimentícios. Das características principais deste grupo podemos enumerar o fato de serem positivas, serem anaeróbias facultativas, serem basicamente sacarolíticas (atuam principalmente sobre os carboidratos), produzirem grande quantidade de ácido lático e ainda não utilizar oxigênio em seu metabolismo. Desde meados do século passado, alguns estudos sobre esse grupo de bactérias têm demonstrado a competição benéfica destas bactérias na microbiota intestinal humana, reduzindo consideravelmente a presença de bactérias indesejáveis, atuando, portanto, como mecanismo natural de defesa (SAAD; CRUZ; FARIA, 2011). Esse grupo de bactérias se divide em homo fermentativos e hetero fermentativos, de acordo com o produto final produzido no processo de fermentação. Se apenas ácido lático são chamadas de homofermentativas.

O queijo *Petit Suisse* em seu regulamento técnico de identidade e qualidade é definido como sendo um “queijo fresco, não maturado, obtido por coagulação do leite com coalho e/ou enzimas específicas e/ou de bactérias específicas, adicionado ou não de outras substâncias alimentícias (BRASIL, 2000). Esta Instrução Normativa, juntamente com a Portaria 146 de 7 de março de 1996, preconizam parâmetros bromatológicos (físico-químicos, microbiológicos e reológico) para que o produto lácteo seja classificado como Queijo *Petit Suisse* (BRASIL, 1996).

Os trabalhos de Maruyama et al. (2006), e também o de Paixão et al. (2011) encontraram valores de umidade acima dos 70% nos queijos *Petit Suisse*. Enquanto Veiga et al. (2000); Cardarelli et al. (2006); Souza et al. (2012); e Vitola et al. (2016) obtiveram resultados oscilando entre 60,0 e 70,0% de umidade. Souza et al. (2011), ao elaborar um queijo *Petit Suisse* de baixo valor calórico obtiveram resultado de até 85,33% de umidade.

A consistência do queijo *Petit Suisse* pode ser avaliada tanto pela análise de viscosidade, quanto pela análise de consistometria. A mais precisa delas é a de viscosidade dinâmica. Cardarelli et al. (2006), avaliando o impacto do congelamento da massa para produção de queijo *Petit suisse* obtiveram viscosidades oscilando entre 66.200 a 172.400cP (centiPoise).

Veiga et al. (2000), realizaram um levantamento dos queijos *Petit Suisse* comercializados no mercado brasileiro e os avaliou quanto às características físico-química e microbiológica. Dentre os principais parâmetros avaliados, destacou-se o teor de proteína que variou de 6,67 até 8,94%. Cardarelli et al. (2008), avaliando a influência do teor de fibras no queijo *Petit suisse* encontraram teores de proteína entre 8,99 e 9,93%, valores muito acima do mínimo recomendado. Souza et al. (2012), ao elaborar um queijo *Petit suisse* de baixo valor calórico obtiveram resultado de proteína entre 9,0 e 9,97%. Vitola et al. (2016), ao desenvolver um queijo *Petit suisse* adicionado de polpa de batata doce obtiveram um percentual de proteína de $7,63 \pm 0,09$. Paixão et al. (2011), caracterizando os queijos *Petit suisse* ofertados no mercado encontraram valores que oscilaram entre 5,39% abaixo do mínimo permitido, até 6,59%.

O pH de um alimento é considerado um dos mais importantes fatores intrínsecos que influenciam na multiplicação de microrganismos que estão presentes no alimento (FORSYTHE, 2002). Embora a legislação que define os parâmetros de identidade e qualidade do queijo *Petit suisse* não defina valores para pH, esse quesito é importante como parâmetro de processo industrial, pois é o indicador que define o final da etapa de fermentação e início da etapa de resfriamento, quando se utiliza bactérias específicas para a obtenção da massa para *Petit suisse*. Veiga et al. (2000), encontraram, nas amostras de queijo *Petit suisse* ofertadas no mercado, valores de pH entre 4,42 e 4,52. Já Maruyama et al. (2006), e também Paixão et al. (2011), encontraram resultados de pH entre 4,37 e 4,75 nas amostras de queijo *Petit suisse* avaliadas. Cardarelli et al. (2008) e também Pereira et al. (2016) encontraram resultados em uma faixa maior de pH nas amostras analisadas, 4,11 a 4,72 e 4,44 a 4,91; respectivamente. Já Vitola et al. (2016), encontraram resultados de pH acima de 5,0 ($5,15 \pm 0,09$).

Veiga et al. (2000), analisou ainda, a contagem de leveduras e fungos filamentosos nos queijos *Petit Suisse* amostrados e encontrou valores entre 30 a 450 UFC/g, valores estes que não ultrapassaram os limites máximos preconizados pela legislação que é de 500UFC/g.

2.6 Cromatografia

Dentre as inúmeras técnicas instrumentais de análise, amplamente adotadas tanto nas indústrias químicas e farmacêuticas, quanto na indústria de alimentos, as técnicas cromatográficas têm ganhado espaço nos laboratórios apresentando resultados práticos considerados de sucesso. Na Instrução Normativa 68, por exemplo, publicada em 12 de dezembro de 2006, cujo teor define os métodos oficiais de análise para controle de leite e produtos lácteos, consta metodologia analítica utilizando a técnica cromatográfica HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) para a detecção e quantificação de caseinomacropéptido (BRASIL, 2006).

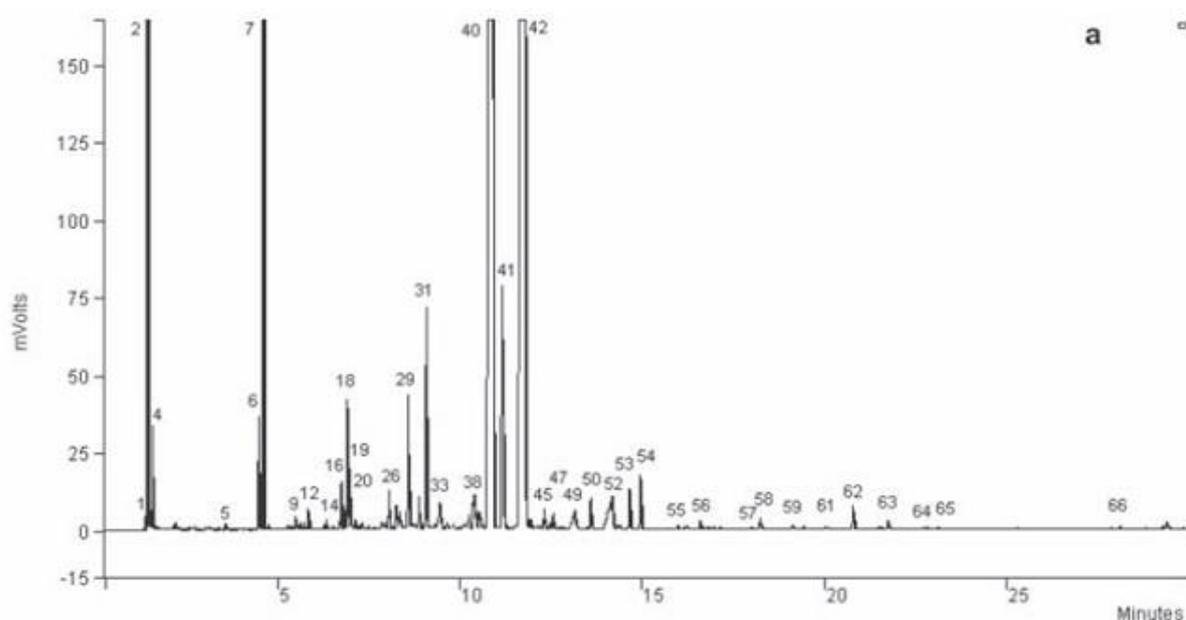
As técnicas cromatográficas colunares, que são as mais utilizadas, são classificadas de acordo com as especificações das fases móvel e estacionária. Dentre estas, as técnicas de cromatografia gasosa (quando a fase móvel é um gás) e a líquida (quando a fase móvel é um líquido) têm sido as mais adotadas nos procedimentos analíticos de laboratórios de controle de qualidade para a detecção e quantificação de diversos tipos de analitos (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2009).

A cromatografia gasosa é uma técnica de separação e quantificação de analitos que são identificados com alta precisão por meio de um tempo de retenção no sistema, conjuntamente com a interpretação da área do pico referente ao analito em estudo. A definição e resolução dos picos cromatográficos e também do tempo de retenção do analito são ajustados pelo operador do sistema por meio de configurações múltiplas do equipamento, tais como velocidade de arraste de gases, temperaturas, composição de gases, etc. O cromatógrafo é composto por sistema de injeção para inserção da amostra no equipamento, coluna específica para grupos de analitos, forno para aquecimento da coluna e detector que realiza a leitura do sinal recebido em função da separação em cada tempo de retenção (RIZZON; SALVADOR, 2010).

A configuração do cromatógrafo abrange diversos parâmetros ajustáveis com o objetivo de facilitar a nitidez do cromatograma. Dentre os parâmetros ajustáveis destacam-se o tipo de coluna a ser utilizado no procedimento, a vazão dos gases envolvidos que comporão a fase móvel, as temperaturas utilizadas nos periféricos injetor, detector e coluna, a composição dos gases e ainda um reagente PA de pureza HPLC para confecção da curva-

padrão do sistema. Uma boa configuração nos permitirá uma melhor nitidez nos dados que serão obtidos como tensão elétrica, em mVolts ou μ Volts, que definirá a altura do pico em relação à linha de base referente ao analito pesquisado, o tempo de retenção, em minutos, em que ocorrerá o pico no cromatograma e a área sob o pico (VAZ JÚNIOR, 2015). Brito et al. (2011), em um trabalho de caracterização dos componentes do óleo essencial de capim-santo por cromatografia gasosa e olfatométrica, encontraram os compostos neral e geranial como sendo os de maior concentração e também de alta intensidade de aroma (picos 40 e 42 da Figura 3).

Figura 3 – Cromatograma do óleo essencial de capim-limão obtido por meio da técnica de cromatografia gasosa.



Fonte: Brito et al. (2011).

REFERÊNCIAS

- ALMASSY JÚNIOR, A. A.; LOPES, R. C.; ARMOND, C.; SILVA, F.; CASALI, V. W. D. **Folhas de chá, plantas medicinais na terapêutica humana**. 1. ed. Viçosa - MG: Editora da UFV, 2005. 233 p.
- ALVIS, A.; MARTINEZ, W.; ARRAZOLA, G. Obtención de extractos hidro-alcohólicos de Limoncillo (*Cymbopogon citratus*) como antioxidante natural. **Información Tecnológica**, La Serena - Chile, v. 23, n. 2, p. 3-10, 2012.
- ANAZETTI M. C.; MELO P. S. Morte celular por apoptose: uma visão bioquímica e molecular. **Metrocamp Pesquisa**, Salvador - BA, v. 1, n. 1, P. 37-58, 2007.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia brasileira**. v. 1, 5. ed. Brasília - DF: Anvisa, 2010. 443 p.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos** – teoria e prática. 6. ed. Viçosa - MG: Editora da UFV, 2015. 668 p.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essentials oil. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford – Inglaterra, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BANDEIRA, M. A. M. **Constituintes químicos vegetais** – óleos essenciais. Farmacognosia II – v. 4, 2000. Disponível em: <www.passeidireto.com/arquivo4947620/oleosessenciais/4>. Acesso em: 12 abr. 2017.
- BATISTON, A. P.; TAMAKI, E. M.; SOUZA, L. A.; SANTOS, M. L. M. Conhecimento e prática sobre os fatores de risco para câncer de mama entre mulheres de 40 a 69 anos. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife - PE, v. 11, n. 2, p. 163-171, 2011.
- BIDINOTTO, L. T. **Efeitos do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* Stapf (capim-limão) sobre processo de carcinogênese química em fêmeas BALB/C**. 2009. 66 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, Botucatu - SP, 2009.
- BLANCO, M. M.; COSTA, C. A. R. A.; FREIRE, A. O.; SANTO, J. G. Jr.; COSTA, M. Neurabehavioral effect of essential oil *Cymbopogon citratus* in mice. **Phytomedicine: International Journal of Phytoterapy and Phytopharmacology**, Jena - Alemanha, v. 16, n. 2-3, p. 265-270, 2009.
- BOROSKY, M.; VISENTAINER, J. V.; COTTICA, S. M.; MORAIS D.R. **Antioxidantes, princípios e métodos analíticos**. 1. ed. Curitiba - PR, Editora Appris. 2015. 139 p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria 146 de 07 de março de 1996**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília - DF, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa 53 de 29 de dezembro de 2000**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo *Petit Suisse*. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília - DF. 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002**. Substâncias bioativas e probióticos isolados com alegação de propriedades funcional e ou de saúde. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília - DF. 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa 68 de 12 de dezembro de 2006**. Métodos Analíticos oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília - DF. 2006.

BRITO, E. S.; GARRUTTI, D. S.; ALVES, P. B.; BLANK, A. F. **Caracterização odorífera dos componentes do óleo essencial de capim-santo (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, Poaceae) por cromatografia gasosa (CG) – olfatométrica**. Fortaleza - CE: Embrapa Agroindustrial Tropical, 2011. 14 p. (Documentos Embrapa, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

CARDARELLI, H. R. **Desenvolvimento de queijo ‘Petit-Suisse’ simbiótico**. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo - SP, 2006.

CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. A.; CASTRO, I. A.; SAAD, S. M. I. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially symbiotic *petit-suisse* cheese. **Food Science and Technology**, London - Inglaterra, v. 41, n. 6, p. 1037-1046, 2008.

CRAVEIRO, A. A.; QUEIRÓZ, D. C. Óleos essenciais e química fina. **Química Nova** Fortaleza - CE, v. 16, n. 3, p. 224-228, 1993.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre - RS: Editora ArtMed, 2010. 900 p.

DUDAI, N.; WEINSTEIN, Y.; KRUP, M.; RABINSKI, T.; OFIR, R. Citral is a new inducer of caspase-3 in tumor cell lines. **Planta Medica**, Stuttgart - Alemanha, v. 71, n. 5, p. 484-488, 2005.

FIESP/ITAL – Federação das Indústrias do Estado de São Paulo / Instituto de Tecnologia de Alimentos. **Brasil Food Trends 2020**. São Paulo - SP: FIESP/ITAL, 2010. 173 p.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre - RS: Editora ArtMed, 2002. 424 p.

GUIMARÃES, L. G. L.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, P. E.; ANDRADE, J.; VIEIRA, S. S. Atividades antioxidantes e fungitóxica do óleo essencial de capim-limão e do Citral. **Ciência Agrônômica**, Jaboticabal - SP, v. 42, n. 2, p. 464-472, 2011.

MARTINAZZO A. P.; CORRÊA P. C.; RESENDE O.; MELO E. C. Análise e descrição matemática da cinética de secagem de folhas de capim-limão. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande - PB, v. 11, n. 3, p. 301-306, 2007.

MARTINS M. B. G.; MARTINS A. R.; TELASCRÊA, M.; CAVALHEIRO A. J. Caracterização anatômica da folha de *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf (*Poaceae*) e perfil químico do óleo essencial **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu - SP, v. 6, n. 3, p. 20-29, 2004.

MARUYAMA, L. Y.; CARDARELLI, H. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Textura instrumental de queijo *Petit Suisse* potencialmente probiótico: influência de diferentes combinações de goma. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas - SP, v. 26, n. 2, p. 386-393, 2006.

NASCIMENTO, E. M.; FURLONG, J.; PIMENTA, D. S.; PRATA, M. C. A. Efeito anti-helmíntico do hidrolato de *Mentha villosa* Huds. (*Lamiaceae*) em nematoides gastrintestinais de bovinos. **Ciência Rural**, Santa Maria - RS, v. 39, n. 3, p. 817-824, 2009.

OLIVEIRA, A. F.; ROMAN, J. A. **Nutrição para tecnologia e engenharia de alimentos**. Curitiba - PR: Editora CRV, 2013. 188 p.

OLIVEIRA, M. M. M.; BRUGNERA, D. F.; CARDOSO, M. G.; GUIMARÃES, L. G. L.; PICOLLI, R. H. Rendimento, composição química e atividade antilisterial de óleos essenciais de espécies de *Cymbopogon*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu - SP, v. 13, n. 1, p. 8-16, 2011.

OLIVEIRA, M. N. **Tecnologia de produtos lácteos funcionais**. São Paulo - SP: Editora Atheneu, 2009. 384 p.

OLIVEIRA, S. M. M.; JOSE, V. L. A. **Processos de extração de óleos essenciais**. Curitiba - PR: TECPAR – Instituto de Tecnologia do Paraná, 2007. 29 p. (Documentos TECPAR, Dossiê Técnico).

PAIXÃO, M. G.; RIBEIRO, O. A. S.; FONSECA, R. L.; RESENDE, C. P. A.; PINTO, S. M.; ABREU, L. R. Caracterização físico-química de queijos Petit Suisse comercializados na região de Lavras - MG e adequação dos rótulos quanto à legislação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora - MG, v. 383, n. 66, p. 5-12, 2011.

PEREIRA, E. P. R.; FARIA, J. A. F.; CAVALCANTI, R. N.; GARCIA, R. K. A.; SILVA, R.; ESMERINO, E. A.; CAPPATO, L. P.; ARELLANO, D. B.; RAICES, R. S. L.; SILVA, M. C.; PADILHA, M. C.; MEIRELES, M. A.; BOLINI, H. M. A.; CRUZ, A. G. Oxidative stress in probiotic *Petit Suisse*: is the jabuticaba skin extract a potential option? **Food Research International**, Barking - Inglaterra, v. 81, p. 149-156, 2016.

PEREIRA, M. A. A. **Estudo da atividade antimicrobiana de óleos essenciais extraídos por destilação por arraste a vapor e por extração supercrítica**. 2010. 60 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS, Porto Alegre - RS, 2010.

PORTER, M. **Estratégia competitiva** – Técnicas para análise de indústria e da concorrência. São Paulo - SP: Editora Campus, 1986. 376 p.

RAVINDER, K.; PAWAN, K.; GAURAV, S.; PARAMJOT, K.; GAGAN, S.; APPRAMDEEP, K. Pharmacognostical investigation of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. **Der Pharmacia Lettre**, Jalandhar - Índia, v. 2, n. 2, p. 181-189, 2010.

RIZZON, L. A.; SALVADOR, M. B. G. **Metodologia para análise de vinho**. 1. ed. Brasília -DF: Embrapa - Informação Tecnológica, 2010. 120 p.

RODRIGUES, M. S.; JARDINETTI, V. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; JESUS, L. S. Atividade fungitóxica de hidrolatos de plantas medicinais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 7., 2011, Fortaleza - CE. **Anais...** Fortaleza – CE: Cadernos de Agroecologia, v. 6, n. 2, 2011. Disponível em: <<http://revistas.abaagroecologia.org.br/index.php/cad/article/view/12458/7085>>. Acesso em: 1º abr. 2017.

SAAD, S. M. I.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F. **Probióticos e prebióticos em alimentos – fundamentos e aplicações tecnológicas**. São Paulo - SP: Livraria Varela, 2011. 669 p.

SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, London - Inglaterra, v. 91, n. 4, p. 621-632, 2005.

SALGADO, J. **Alimentos funcionais**. São Paulo - SP: Oficina de Textos, 2017. 256 p.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, A. T. **Princípios de análise instrumental**. 6. ed. Porto Alegre - RS: Editora Bookman, 2009. 1056 p.

SOUZA, V. R.; CARNEIRO, J. D. S.; PINTO, S. M.; SOUZA, A. B.; STEPHANI, R. Efeito da concentração de gordura nas propriedades físicas, químicas e sensoriais do queijo *Petit Suisse* elaborado com retenção de soro. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora - MG, v. 386, n. 67, p. 20-28, 2012.

SOUZA, V. R.; PEREIRA, P. A. P.; GOMES, U. J.; CARNEIRO, J. D. S. Avaliação e definição do perfil de textura ideal de queijo *Petit Suisse*. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora - MG, v. 382, n. 66, p. 48-53, 2011.

STEFFEN, C. J. **Plantas medicinais – usos populares tradicionais**. São Leopoldo - RS: Instituto Anchieta de Pesquisas/Unisinos, 2010. 74 p.

TARTARI, R. F.; BUSNELLO, F. M.; NUNES, C. H. A. Perfil nutricional de pacientes em tratamento quimioterápico em um ambulatório especializado em quimioterapia. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Rio de Janeiro - RJ, v. 56, n. 1, p. 43-50, 2010.

VAZ JÚNIOR, S. **Análise química da biomassa**. 1. ed. Brasília - DF: Embrapa, 2015. 146 p.

VEIGA, P. G.; CUNHA, R. L.; VIOTTO, W. H.; PETENATE, A. J. Caracterização química, reológica e aceitação sensorial do queijo *Petit Suisse* brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas - SP, v. 20, n. 3, p. 349-357, 2000.

VILLAVERDE, J. M.; SANCHES, L.; TERRA, V. A.; CECCHINI, R.; CECCHINI, A. L.; LUIZ, R. C. Efeitos do óleo essencial do capim-limão (*Cymbopogon citratus* Stapf) sobre células humanas de melanoma (SK-MEL 147) e queratinócitos (HaCaT). **Biosaúde**, Londrina - PR, v. 15, n. 1, p. 22-36, 2013.

VITOLA, H. R. S.; GRÜTZMANN, L. S.; CUNHA, C.; TUCHTENHAGEN, V.; *et al* Desenvolvimento e caracterização físico-química de queijo *Petit Suisse* com batata-doce. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25., 2016, Gramado - RS. **Anais...** Gramado - RS, SBCTA-RS, 2016. p. 1-5.

CAPÍTULO 2

INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAPIM-LIMÃO
NA PRODUÇÃO DE QUEIJO *PETIT SUISSE*INFLUENCE OF THE ESSENTIAL OIL OF LEMONGRASS IN *PETIT SUISSE*
*CHEESE PRODUCTION***Resumo**

Produtos considerados funcionais vêm ganhando espaço nas gôndolas em função da demanda por uma alimentação saudável. Os produtos lácteos podem ser base para produtos funcionais, por meio da adição de bactérias benéficas e/ou da adição de nutracêuticos. O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da adição do óleo essencial de capim-limão, que contém a substância bioativa citral, nas características físico-químicas, microbiológicas e reológicas do queijo *Petit Suisse*. Foram produzidas cinco formulações diferentes de queijo *Petit Suisse*, com concentrações de óleo essencial variando de 27 até 215 mg.L⁻¹, além da formulação padrão sem a presença do óleo essencial. Os parâmetros avaliados após 1, 15, 30 e 45 dias após fabricação foram os principais exigidos pela legislação vigente, tais como umidade, proteína, coliformes, *S. aureus* coagulase positiva e leveduras e fungos filamentosos. O delineamento estatístico utilizado foi o do tipo inteiramente casualizado em esquema fatorial. Somente o pH médio aos 45 dias em todos os tratamentos foi ligeiramente menor que o pH médio das amostras analisadas. Tanto os outros parâmetros físico-químicos avaliados, quanto a viscosidade e os parâmetros microbiológicos, não apresentaram resultados que demonstrassem haver interferência significativa da adição de óleo essencial nas características do queijo *Petit Suisse* ($P < 0,05$).

Palavras-chave: antioxidante, antirradicais livres, funcional, lácteo.

Abstract

Products considered functional has won space in the gondolas due to the demand for a healthy diet. Dairy products may be the basis for functional products, by the addition of beneficial bacteria and/or the addition of nutraceuticals. The objective of this work was to evaluate the influence of the addition of the essential oil of lemongrass, which contains the citral bioactive substance, in the physical-chemical, microbiological and rheological characteristics of *Petit Suisse* cheese. Five different formulations of *Petit Suisse* cheese were produced, with essential oil concentrations varying from 27 to 215 mg.L⁻¹, in addition to the standard formulation without the presence of the essential oil. The parameters evaluated after 1, 15, 30 and 45 days after manufacture were the main ones required by current legislation, such as humidity, protein, coliforms, coagulase positive *S. aureus* and yeasts and filamentous fungi. The statistical design was completely randomized in a factorial scheme. Only the mean pH at 45 days in all treatments was slightly lower than the mean pH of the analyzed samples. Both the other physicochemical parameters evaluated, as well as the viscosity and the microbiological parameters did not present results that showed significant interference of the addition of essential oil in the characteristics of *Petit Suisse* cheese ($P < 0.05$).

Keywords: antioxidant, dairy, free radicals scavenger, functional foods.

Introdução

A ruptura da ideia de que a saúde e a medicina estavam ligadas estritamente a dogmas religiosos iniciou-se na Grécia antiga com Hipócrates, considerado hoje o pai da medicina. A expressão “*Que seu alimento seja seu remédio e que seu remédio seja seu alimento*”, de sua autoria, sempre esteve à frente de muitas pesquisas na área da ciência dos alimentos, em maior ou menor intensidade, recebendo influências dos diversos modismos, muito comum na área nutricional. No entanto, o uso de alimentos benéficos à saúde, também conhecidos como funcionais, ganhou força no final do século passado, quando o mundo voltou os olhares para o Japão, enquanto os japoneses deram uma grande ênfase a um grupo de alimentos que foi “batizado” de FOSHU (*Food for specified health use*). A pesquisa e desenvolvimento de ingredientes benéficos à saúde, chamados também de substâncias bioativas, fez com que a indústria de alimentos reformulasse sua estratégia de atuação, assim como ocorreu no século passado com a indústria farmacêutica. A Resolução RDC nº 2 de 07 de janeiro de 2002 define como sendo substância bioativa “todos os nutrientes, e também os não nutrientes, que possuem ação metabólica ou fisiológica específica”⁽¹⁾.

As plantas medicinais, de um modo geral, são ministradas ao paciente sob as formas de infusões, chás ou concentrados. O capim-limão (*Cymbopogon citratus* DC. Stapf), também conhecido como capim-cidreira, erva-cidreira, chá-de-estrada, capim-santo, capim-de-cheiro, dentre inúmeros outros nomes, é muito usado empiricamente na medicina popular devido tanto à facilidade de obtenção desta planta, como também aos inúmeros benefícios como medicamento fitoterápico. Dentre as inúmeras propriedades terapêuticas do capim-limão, destaca-se a atividade antioxidante e anticarcinogênica, em função do composto fitoquímico Citral, que é o principal componente do óleo essencial desta planta⁽²⁾. Agentes oxidantes podem ser utilizados no processamento de alimentos, tais como o peróxido de hidrogênio utilizado na indústria frigorífica e na de laticínios ou o peróxido de benzofla utilizado no clareamento de farinhas de cereais e aparecerem como resíduos contaminantes nos mesmos. Podem ainda serem formados de forma endógena nos alimentos. Esses compostos formados de forma endógena são conhecidos como radicais livres⁽³⁾. Ravinder et al.⁽⁴⁾ realizaram estudos comprovando que a substância bioativa Citral atua tanto como antioxidante no combate aos radicais livres, como também na prevenção de diversos tipos de câncer. Para a comprovação da capacidade antioxidante das diversas substâncias bioativas já existem várias metodologias laboratoriais e dentre estas podem ser citadas como mais utilizadas a metodologia Folin Ciocateau, a DPPH – determinação espectrofotométrica da captura radicalar, a TRAP – determinação espectrofluorimétrica da captura radicalar e a

ORAC – Oxigen Radical Absorption Capacity. Em muitas dessas técnicas um dos padrões mais usados é o ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico, conhecido com o nome comum de Trolox⁽⁵⁾. Sacchetti et al.⁽⁶⁾ avaliando a atividade antioxidante, ou seja, que combate os radicais livre, trabalhando com um óleo essencial contendo 73,58 g Citral/100 g de óleo, demonstrou que o óleo essencial de capim-limão possui uma atividade de $23,3 \pm 0,30$ mTE/L (mmol de Trolox equivalente por litro).

Óleos essenciais de plantas contêm a grande maioria dos compostos considerados benéficos à saúde e sua utilização como substância bioativa tem sido estudada tanto na área da farmacêutica, quanto na área da ciência e tecnologia de alimentos. O óleo essencial do capim-limão possui, dentre outros, os compostos fitoquímicos Geranial e Neral, conhecidos também como Citral A e Citral B, respectivamente, e que juntos formam o composto majoritário Citral, de maior importância como substância bioativa⁽²⁾. Uma das formas mais comuns para a obtenção desses fitoquímicos é a técnica de separação via arraste a vapor extraíndo o óleo.

A estaurosporina que é o medicamento utilizado como referência para os testes de apoptose via atividade da protease Caspase-3 atuando na segmentação do DNA, foi usada como padrão de referência para testes com a substância bioativa citral realizados na Universidade de Ben Gurion, em Israel. Estes estudos demonstraram a equivalência preventiva entre uma dosagem de estaurosporina em uma concentração de $0,7 \mu\text{M}$ com $22,25 \mu\text{M}$ de Citral, equivalente a $3,382 \text{ mg}$ de Citral⁽⁷⁾.

Dentre os alimentos utilizados como base para funcionais, os produtos lácteos, principalmente iogurtes e queijos, têm sido preferidos devido à sinergia entre estes e as diversas substâncias bioativas⁽⁸⁾. O queijo *Petit Suisse* é um queijo fresco, obtido por coagulação do leite por meio de enzimas específicas ou ácidos específicos ou bactérias específicas. É um produto lácteo destinado quase que exclusivamente ao público infantil devido, principalmente, aos teores de proteína e cálcio. A oferta deste produto nas gôndolas tem crescido muito em função da possibilidade de fabricação deste por empresas de qualquer porte.

Apesar da sinergia favorável que faz com que diversos grupos de produtos de laticínios sejam utilizados como base para alimentos funcionais, o mesmo não se pode dizer sobre o controle de qualidade a que esses produtos precisariam ser submetidos, para confirmação e quantificação da substância bioativa no produto final ofertado ao consumidor. O desenvolvimento de metodologias laboratoriais para detecção e quantificação de nutrientes funcionais tem se tornado uma busca constante nos laboratórios dos órgãos de fiscalização devido ao fato de que muitos destes ingredientes funcionais e seus analitos não possuem uma

metodologia analítica regulamentada. As técnicas instrumentais de análise, dentre estas as técnicas cromatográficas apresentam ótima performance para análises de diversos compostos químicos em concentrações que podem chegar a limites de detecção da ordem de ng.Kg^{-1} (ppb – partes por bilhão). A cromatografia colunar é uma metodologia de separação de compostos acoplada a um sistema de identificação pós-separação, e pode ser classificada basicamente em cromatografia líquida e cromatografia gasosa. Para a confirmação da concentração do composto Citral, que é quem caracteriza o queijo *Petit Suisse* como alimento funcional, foi utilizado a técnica de cromatografia gasosa interligada a um detector de chama. O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência da adição do óleo essencial extraído do capim-limão, nas características físico-químicas, microbiológicas e reológicas do queijo *Petit Suisse*.

Material e métodos

Obtenção do óleo essencial

O capim-limão coletado em diversas localidades, após seleção, pesagem e toaleta adequada com solução clorada a 30 mg.L^{-1} de hipoclorito de sódio, foi colocado no destilador a vapor do laboratório de Biotecnologia do IFSULDEMINAS, campus Muzambinho, para extração do óleo essencial. O tamanho dos lotes adotados como padrão variou entre 400 e 500 g, tendo em vista que a capacidade máxima da dorna do destilador é de 600 g. O vapor, que é o responsável pelo arraste dos odores e dos óleos evaporados são resfriados no condensador e o óleo coletado na proveta do aparelho, previamente abastecida com 100 mL de água deionizada. A emulsão recolhida foi armazenada em frascos com tampa tipo rosca, embrulhados em papel alumínio para proteger o produto contra oxidações e colocados em câmara fria com temperaturas máximas de $10 \text{ }^\circ\text{C}$, para uso na fabricação do queijo *Petit Suisse*. O fluxograma demonstrando o processo de extração do óleo essencial de capim-limão se encontra na Figura 1.

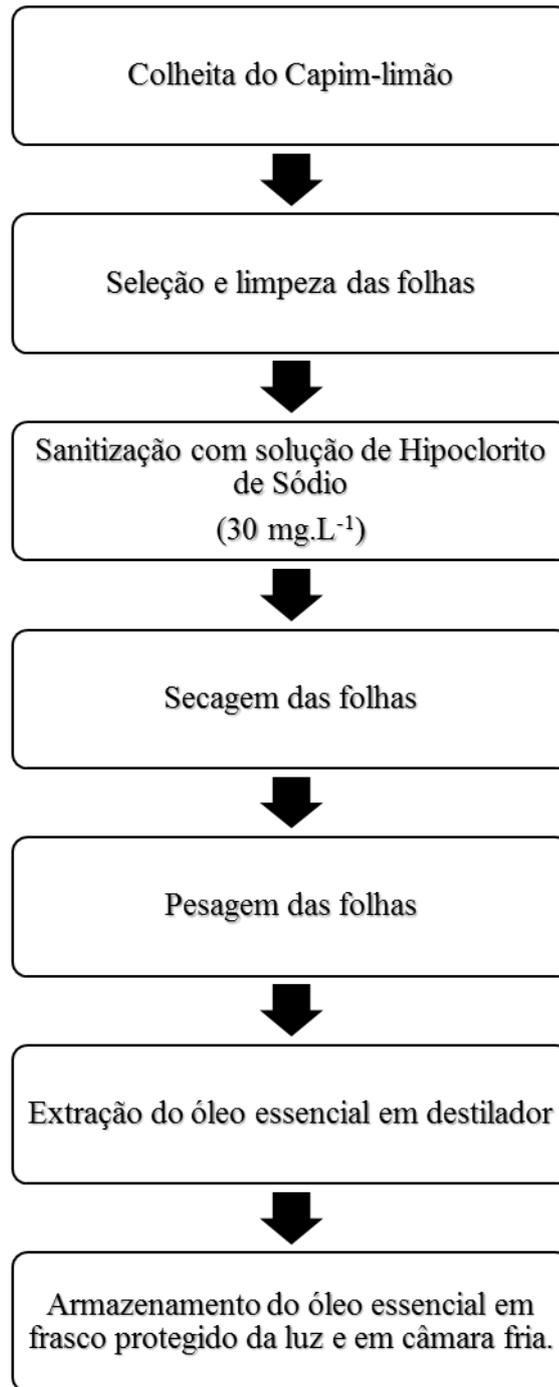


Figura 1. Fluxograma da obtenção do óleo essencial.

Produção do queijo *Petit Suisse* adicionado de óleo essencial de capim-limão

Para a fabricação do queijo *Petit Suisse*, foi elaborada uma pesquisa de mercado com alguns fornecedores de ingredientes, líderes no fornecimento de ingredientes na indústria alimentícia nacional, com o objetivo de conhecer os ingredientes que estavam sendo utilizados pela indústria na produção do queijo *Petit Suisse*. A formulação escolhida como *benchmarking* foi a sugerida por uma destas empresas, que fornece um mix de proteínas já enriquecido com aditivos apropriados para a produção desta categoria de produto. Com base na formulação sugerida, foi realizado um estudo para que o perfil composicional de produto final obtido com os ingredientes sugeridos fosse obtido também com os ingredientes adquiridos de outras empresas. A base principal para esse estudo foram os parâmetros definidos pela Instrução Normativa nº 53 de 29 de dezembro de 2000, que define os padrões de identidade e qualidade do queijo *Petit Suisse*⁽⁹⁾.

Os ingredientes utilizados na fabricação do queijo *Petit Suisse* foram Leite em pó integral, devidamente registrado no Serviço de Inspeção Federal – SIF/DIPOA do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e com as características em conformidade com padrão estipulado pela legislação vigente; açúcar cristal isento de sujidades e impurezas; cultura lácteo liofilizada da série YoMix, à base de *Streptococcus* sp e *Lactobacillus* sp, conforme dosagem recomendada pela empresa Danisco®, fabricante da cultura liofilizada, e o óleo essencial de capim-limão obtido no Laboratório de Biotecnologia do IFSULDEMINAS. As formulações utilizadas se encontram na Tabela 1.

Tabela 1. Formulações utilizadas no experimento.

Ingredientes	Unid.	T1	T2	T3	T4	T5	T6
		Sem óleo essencial	27 mg.Kg ⁻¹ de óleo essencial	53 mg.Kg ⁻¹ de óleo essencial	108 mg.Kg ⁻¹ de óleo essencial	161 mg.Kg ⁻¹ de óleo essencial	215 mg.Kg ⁻¹ de óleo essencial
Leite pasteurizado	Kg	76,63	76,63	76,63	76,63	76,63	76,63
Leite em pó integral	Kg	14,86	14,86	14,86	14,86	14,86	14,86
Açúcar cristal	Kg	8,51	8,51	8,51	8,51	8,51	8,51
Cepas de bactérias lácticas (YoMix499)	DCU*	10	10	10	10	10	10
Óleo essencial	g	-	2,7	5,3	10,8	16,1	21,5
Total	Kg	100	100	100	100	100	100

*DCU = Unidades de Concentração recomendadas pela Danisco® (*Danisco Concentration Unit*)

Para a fabricação do queijo *Petit Suisse* foi utilizado tanque de parede dupla com entrada de vapor e água industrial, dotado de agitador. Após a mistura da matéria-prima com os ingredientes, com exceção do fermento lácteo e do óleo essencial, realizou-se um tratamento de 90 °C durante 5 minutos, seguido de um resfriamento até 43 °C. Ao completar 43 °C, a mistura foi separada em 6 lotes distintos e estes lotes receberam a dosagem padrão de fermento lácteo e ainda as dosagens do óleo essencial de acordo com os tratamentos almejados (27, 53, 108, 161 e 215 mg.Kg⁻¹, além do lote sem a adição de óleo essencial). Estes lotes foram envasados em frascos de polietileno e colocados em estufa com regulador de temperatura automático, regulada para 43 °C, onde permaneceram por 15 h até a completa fermentação do queijo. Após a fermentação concluída, os frascos de polietileno foram destinados à câmara fria com temperatura não superior a 10 °C e foram mantidos nesta câmara até o momento das análises. As análises laboratoriais foram realizadas nos tempos 1, 15, 30 e 45 dias após a fabricação e os parâmetros analisados foram teor de umidade, teor de proteína, colimetria (30 °C e 45 °C), contagem de *S. aureus* coagulase positiva e contagem de

Leveduras e Fungos filamentosos.

O fluxograma de produção do queijo *Petit Suisse* com óleo essencial de capim-limão pode ser visto na Figura 2.

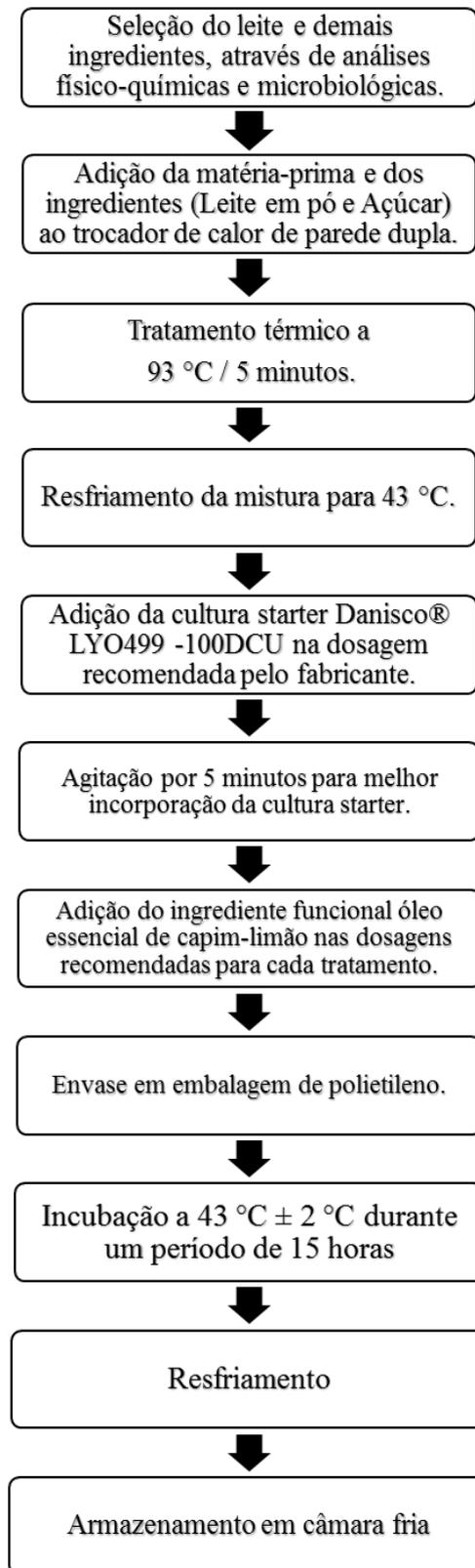


Figura 2. Fluxograma de produção do queijo *Petit Suisse* com óleo essencial de capim-limão.

Análises laboratoriais

O leite utilizado foi selecionado avaliando sua qualidade quanto à estabilidade ao Alizarol 78 °GL, Acidez Dornic, Teor de Gordura e Densidade de acordo com os parâmetros estipulados pela Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011⁽¹⁰⁾. Além dos ensaios físico-químicos, realizou-se a análise de resíduos de Antibióticos dos grupos Beta-Lactâmicos, Tetraciclinas e Cefalexinas. O método utilizado foi o SNAPduo® STPlus, fornecido pela IDEXX. Estes testes foram realizados no setor de Leite e Derivados do Complexo Agroindustrial do IFSULDEMINAS – Campus Muzambinho, de acordo com a técnica preconizada pela Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que aprova os Métodos Analíticos Oficiais Físico – Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos⁽¹¹⁾.

Os parâmetros físico-químicos analisados no queijo *Petit Suisse*, e que são exigidos como determinantes para o padrão de identidade e qualidade do produto, foram teor de umidade e teor de proteína. Os ensaios foram conduzidos também de acordo com a Instrução Normativa 68/06⁽¹¹⁾.

As técnicas cromatográficas colunares, que são as mais utilizadas, são classificadas de acordo com as especificações das fases móvel e estacionária. Dentre estas, as técnicas de cromatografia gasosa (quando a fase móvel é um gás) e a líquida (quando a fase móvel é um líquido) têm sido as mais adotadas nos procedimentos analíticos de laboratórios de controle de qualidade para a detecção e quantificação de diversos tipos de analitos⁽¹²⁾. Para confirmação dos teores de Citral no queijo, utilizou-se da técnica de cromatografia gasosa com coluna DB-5 e detector FID (*Flame Ionization Detector*) e gases específicos para uso em HPLC. Para a confecção da curva padrão foram utilizadas soluções com concentrações diversas utilizando o reagente PA Citral Aldrich.

Os parâmetros microbiológicos analisados foram colimetria (30 e 45 °C), contagem de *S. aureus* coagulase positiva e contagem de leveduras e fungos filamentosos. Todas as análises seguiram o procedimento padrão estipuladas pela Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA⁽¹³⁾. Apesar de constarem como requisitos microbiológicos para queijos classificados como de muito alta umidade, com ou sem bactérias lácticas em forma viável⁽¹⁴⁾, os microrganismos do gênero *Salmonella* e o microrganismo da espécie *Listeria monocytogenes* não foram incluídos nesse trabalho tendo em vista que as quatro pesquisas microbiológicas envolvidas, coli 30 °C, coli termotolerantes, *S. aureus* coagulase positiva e Leveduras e fungos filamentosos são suficientes para avaliar a influência ou não da adição do óleo essencial pesquisado.

Análises estatísticas

Pelos histogramas, juntamente com a razão entre as variâncias obtidas do banco de dados de cada parâmetro, realizou-se a verificação de homocedasticidade dos dados obtidos. Para os dados considerados homocedásticos aplicou-se a Análise de Variância. Para os dados não homocedásticos utilizou-se a Estatística Não Paramétrica, aplicando o Teste de Kruskal-Wallis⁽¹⁵⁾.

Os dados relacionados aos microrganismos indicadores de boas práticas de fabricação, como é o caso dos coliformes, por exemplo, geralmente apresentam dados não homocedásticos devido à disparidade entre os valores mínimos e máximos da população. No teste de Kruskal-Wallis, que é o que foi utilizado para avaliação estatística dos dados microbiológicos obtidos no processamento do queijo *Petit Suisse* adicionado de capim-limão, foram definidas as Hipóteses de Nulidade, também conhecida como H_0 , e a Hipótese Alternativa, ou H_a , que contraria a Hipótese de Nulidade.

A fórmula utilizada para encontrar o H no Teste de Kruskal-Wallis é:

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

onde:

N = número total de parcelas.

N_i = número de repetições no tratamento i.

R = Soma de ordens para cada tratamento.

Como premissa do experimento definiu-se que:

Hipótese nula (H_0) = todas as medianas são “estatisticamente” iguais.

Hipótese alternativa (H_a) = pelo menos uma mediana é “estatisticamente” diferente.

Para os testes de Kruskal-Wallis observam-se os valores Qui-Quadrado, comparando-os com as respectivas tabelas. Quando o valor de χ^2 calculado for maior que o χ^2 tabelado, conclui-se que há diferença entre os tratamentos⁽¹⁵⁾.

Os resultados analíticos foram analisados com o auxílio dos programas Agroestat⁽¹⁶⁾ e Minitab[®]18⁽¹⁷⁾.

Resultados

Os parâmetros físico-químicos que são utilizados para definir legalmente os padrões de identidade e qualidade do queijo *Petit Suisse* são o teor de umidade ($\geq 55,0\%$) e o teor de proteínas lácteas ($\geq 6,0\%$)⁽⁹⁾. Já os parâmetros microbiológicos, que são definidos pela Portaria 146 de 07 de março de 1996 – Requisitos microbiológicos de queijos, os teores máximos em Unidades Formadoras de Colônias (UFC) para as contagens de coliformes 30 °C (máx. 100 UFC/g), coliformes termotolerantes (máx. 10 UFC/g), Estafilococos coagulase positiva (máx. 10 UFC/g), Leveduras e Fungos filamentosos (máx. 500 UFC/g) e ainda as ausências de *Salmonella* sp e *Listeria monocytogenes*⁽¹⁴⁾. As características sensoriais como consistência (pastosa, branda ou mole), cor, odor e sabor são definidos pelos fabricantes, e consequentemente avaliados pelos órgãos regulamentadores, em função das características obtidas de acordo com as substâncias adicionadas.

Os resultados obtidos nas análises de umidade e proteína do queijo *Petit Suisse* se encontram nas Figuras 3a e 3b.

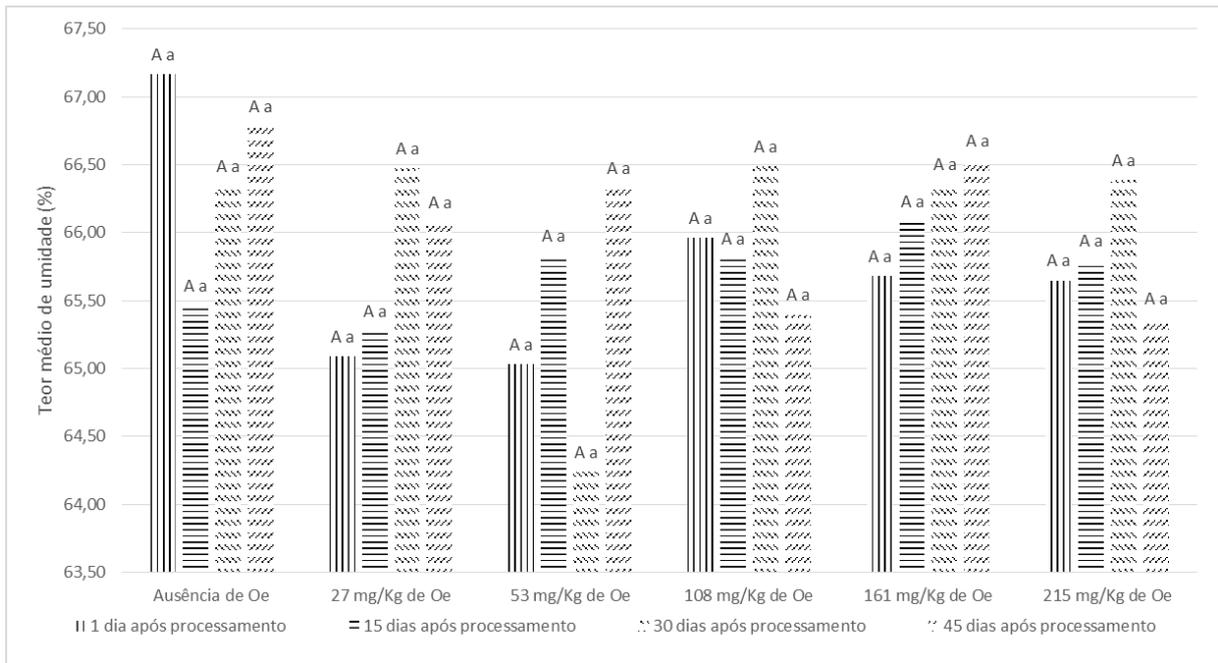


Figura 3a. Resultados dos teores médios de umidade do queijo *Petit Suisse* adicionado de óleo essencial (OE) de capim-limão.

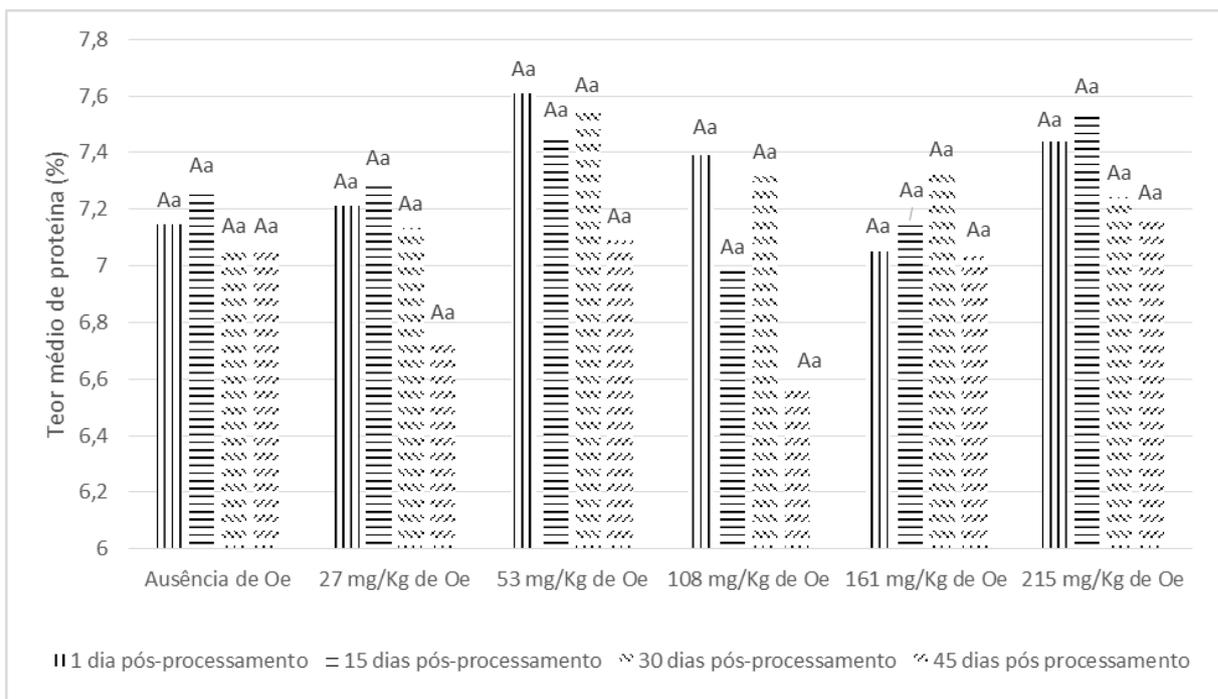


Figura 3b. Resultados dos teores médios de proteína do queijo *Petit Suisse* adicionado de óleo essencial (OE) de capim-limão.

Tabela 2. Análise de variância dos dados referentes aos teores de umidade e proteína do queijo *Petit Suisse* adicionado de óleo essencial de capim-limão.

	GL*	F tab**	Umidade	Proteína
			F calc***	F calc***
Concentração de óleo essencial	5	2,9	1,2 (NS)	2,75 (NS)
Resíduo	15			
Dias pós-fabricação	3	2,76	0,39 (NS)	5,55 (S)
Resíduo	54			
Interação Tratamento 1 (Concentração de óleo essencial) vs Tratamento 2 (Dias pós-fabricação)	15	1,84	0,74 (NS)	1,36 (NS)
Resíduo	54			

*GL – Graus de liberdade; **Ftab = Valor de F obtido via tabela estatística específica para o teste adotado; ***Fcalc = Valor de F obtido na Análise de Variância; Se Fcalc < Ftab compreende-se não haver diferença significativa entre os tratamentos avaliados (P<0,05).

S = Significativo, ou seja, há diferença significativa entre os tratamentos avaliados;
NS = Não Significativo, ou seja, não há diferença significativa entre os tratamentos avaliados.

Os valores médios de umidade encontrados nas amostras do queijo *Petit Suisse* com óleo essencial de capim-limão; $65,9\% \pm 2,3$; está de acordo com a legislação vigente. Neste trabalho foram encontrados valores sempre superiores ao estipulado pela legislação vigente, conforme pode ser observado na Figura 3. A média do percentual de proteína nas amostras foi de $7,202\% \pm 0,55$.

Os resultados obtidos nas contagens de Coliformes 30 °C e Coliformes Termotolerantes do queijo *Petit Suisse* bem como o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis utilizado para a análise dos dados referente a essas contagens se encontram na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados das análises de colimetria (30 °C e Termotolerantes) pelo Teste de Kruskal-Wallis, do queijo *Petit Suisse* adicionado de óleo essencial de capim-limão.

Dias após fabricação	Parâmetros principais da Estatística Descritiva	Coliformes 30 °C						Coliformes termotolerantes						
		Concentração de óleo essencial (mg.Kg ⁻¹)						Concentração de óleo essencial (mg.Kg ⁻¹)						
		0	27	53	108	161	215	0	27	53	108	161	215	
1 dia após fabricação	Média	13,5	1,8	2,75	22,5	10,75	5,75	0,75	0	0	0,9	0	0	
	Mediana	5,5	Bb	1,8	Cb	0	C	7,5	Aa	0	B	0	B	
	Desvio padrão	2034	2,08	5,5	35,71	21,5	11,5	1,5	0	0	1,8	0	0	
	Menor valor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Maior valor	43	3,6	11	75	43	23	3	0	0	3,6	0	0	
		Média	34,5	16,5	0,9	0,75	5,25	11,5	0,9	0	0	0,9	0	0
15 dia após fabricação	Mediana	31,5	Aa	11,5	Aa	0	C	0	Cb	0	C	5,5	B	
	Desvio padrão	32,21	20,73	1,8	1,5	10,5	16,5	1,8	0	0	1,8	0	0	
	Menor valor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Maior valor	75	43	3,6	3	21	35	3,6	0	0	3,6	0	0	
		Média	3,65	0,9	0,9	0	2,75	5,25	0	0	0	0,85	0	0
	Mediana	1,8	Bb	0	Bb	0	B	0	Bb	1,8	B	0	A	
30 dias após fabricação	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Desvio padrão	5,19	1,8	1,8	0	3,53	10,5	0	0	0	3,7	0	0	
	Menor valor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Maior valor	11	3,6	3,6	0	7,4	21	0	0	0	7,4	0	0	
		Média	1,65	0,9	0,9	0	2,6	2,75	0	0	0	0	0	0
	Mediana	1,5	Bb	0	Bb	0	Bb	0	Bb	1,5	A	0	A	
45 dias após fabricação	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Desvio padrão	1,92	1,8	1,8	0	3,5	5,5	0	0	0	0	0	0	
	Menor valor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Maior valor	3,6	3,6	3,6	0	7,4	11	0	0	0	0	0	0	
		Média	1,65	0,9	0,9	0	2,6	2,75	0	0	0	0	0	0
	Mediana	1,5	Bb	0	Bb	0	Bb	0	Bb	1,5	A	0	A	

A, B, C, a, b e c: Medianas seguidas por diferentes letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis (p<0,05)

Embora tenham sido observadas diferenças significativas de crescimento tanto em relação ao tratamento principal “concentração de óleo essencial”, quanto ao tratamento secundário “dias após fabricação”, não houve nenhuma amostra que atingiu o limite máximo de 100 NMP/g estipulado pela legislação vigente⁽¹⁴⁾. Quanto à contagem de coliformes termotolerantes, o teste de Kruskal-Wallis demonstrou não haver diferença significativa entre os tratamentos.

Os resultados descritivos e o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis utilizado para a análise dos dados referente às contagens de *S. aureus* coagulase positiva e também o de Leveduras e Fungos filamentosos, se encontram na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados das análises de *S. aureus* e Leveduras e fungos filamentosos, pelo Teste de Kruskal-Wallis, do queijo *Petit Suisse* adicionado de óleo essencial de capim-limão.

Dias após fabricação	Parâmetros principais da Estatística Descritiva	<i>Staphylococcus aureus</i> coagulase positiva							Leveduras e Fungos filamentosos									
		Concentração de óleo essencial (mg.Kg ⁻¹)							Concentração de óleo essencial (mg.Kg ⁻¹)									
		0	27	53	108	161	215		0	27	53	108	161	215				
1 dia após fabricação	Média	10	0	7,5	6,75	2,5	2,5		0	0	60	0	0	0				
	Mediana	10	0	5	3,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
	Desvio padrão	11,55	0	9,5	9,43	5	5	7,74	b	0	0	120	0	0	0	48,99	c	
	Menor valor	0	0	0	0	0	0			0	0	0	0	0	0			
	Maior valor	20	0	20	20	10	10			0	0	240	0	0	0			
15 dia após fabricação	Média	6,25	7,5	0	7,5	0	0		177,5	255	77,5	25	2,5	25				
	Mediana	5	5	0	5	0	0	0	120	10	50	0	0	0	0	0		
	Desvio padrão	7,5	9,57	0	9,57	0	0	6,7	b	225,4	496,8	100,1	50	5	50	222,8	a	
	Menor valor	0	0	0	0	0	0			0	0	0	0	0	0			
	Maior valor	15	20	0	20	0	0			470	1000	210	100	10	100			
30 dias após fabricação	Média	0	7,5	1,25	9,75	0	0		75	0	0	125	0	75				
	Mediana	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0				
	Desvio padrão	0	15	2,5	19,5	0	0	9,8	a	150	0	0	250	0	150	128,5	b	
	Menor valor	0	0	0	0	0	0			0	0	0	0	0	0			
	Maior valor	0	30	5	39	0	0			300	0	0	500	0	300			
45 dias após fabricação	Média	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0				
	Mediana	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	Desvio padrão	0	0	0	0	0	0	0	c	0	0	0	0	0	0	0	0	d
	Menor valor	0	0	0	0	0	0			0	0	0	0	0	0			
	Maior valor	0	0	0	0	0	0			0	0	0	0	0	0			

A, B, C, a, b e c: Medianas seguidas por diferentes letras maiúsculas na linha e minúsculas na coluna diferem entre si pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$)

A análise dos dados referentes às análises microbiológicas de *S. aureus* e também de Leveduras e Fungos filamentosos demonstraram que as contagens desses microrganismos variaram em função do tempo após fabricação (tratamento secundário), mas o mesmo não ocorreu em relação ao tratamento primário “concentração de óleo essencial”.

Discussão

O teor de umidade do queijo *Petit Suisse* é definido por meio da classificação deste produto no item 2.2.1 da Instrução Normativa nº 53⁽⁹⁾, que o classifica como queijo de muito alta umidade e também por meio do item 2.2.2 da Portaria 146/96, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos⁽¹⁴⁾, que especifica que os queijos de muito alta umidade não poderão ter umidade inferior a 55,0%. A legislação permite nuances de consistência pastosa, branda ou mole para o queijo *Petit Suisse*⁽⁹⁾.

Observando a relação entre o teor de umidade e a concentração do óleo essencial no queijo *Petit Suisse*, não foi verificada diferença significativa, indicando que, as diferentes concentrações utilizadas de óleo essencial de capim-limão no processamento do queijo *Petit Suisse*. O tempo pós-processamento também não influenciou significativamente no teor de umidade e, conseqüentemente, nas características do produto. Paixão et al.⁽¹⁸⁾ encontraram valores de umidade entre 71,22% e 77,46% para os queijos *Petit Suisse* comercializados no mercado de Lavras-MG, valores estes, próximos aos obtidos em nosso experimento com o óleo essencial de capim-limão. A consistência do queijo *Petit Suisse* está diretamente relacionada ao teor de umidade e ao uso de aditivos permitidos de serem utilizados no processo produtivo através do anexo constante na Instrução Normativa 53/2000⁽⁹⁾.

A proteína láctea é o item de maior valor econômico no processamento de produtos lácteos. O queijo *Petit Suisse*, para que assim seja denominado, deve possuir teor mínimo de 6,0% de proteína láctea⁽⁹⁾.

Observando a relação entre o teor de proteínas e a concentração do óleo essencial no queijo *Petit Suisse*, não foi verificada diferença significativa. Verificou-se diferença significativa para o tratamento secundário, tempo após fabricação. No entanto, quando se avalia a interação entre o tratamento principal e o tratamento secundário, verifica-se não haver diferença significativa entre os teores de proteína das amostras avaliadas, não alterando as características do produto.

Diversos trabalhos têm demonstrado que os queijos *Petit Suisse* ofertados no mercado têm, na

maioria dos casos, teores de proteína acima do teor mínimo exigido. Veiga et al.⁽¹⁹⁾, avaliando a composição de vários queijos *Petit Suisse* disponíveis no mercado encontraram valores de proteína de até 8,94%. Souza et al.⁽²⁰⁾ ao elaborar um queijo *Petit Suisse* com baixo valor energético obtiveram teores de proteína entre 9,0% e 9,7%, mais de 50% acima do limite mínimo exigido. Paixão et al.⁽¹⁸⁾ analisando marcas de queijo *Petit Suisse* disponíveis no mercado consumidor de Lavras-MG encontraram valores de proteína abaixo do mínimo permitido, 5,39%; e a amostra com maior teor apresentou 6,59%, ou seja, menos de 10% acima do limite mínimo permitido. Os valores de proteína encontrados nas amostras de queijo *Petit Suisse* adicionado de óleo essencial de capim-limão ficaram próximos aos valores encontrados por Veiga et al.⁽¹⁹⁾ e Souza et al.⁽²⁰⁾.

Definem-se como coliformes totais o grupo de microrganismos da família *Enterobacteriaceae*, tendo como característica principal a fermentação da lactose com produção de gás após incubação em temperatura ótima de crescimento deste grupo, 30 a 37 °C, por um período de 48 horas. Nesta família podem-se destacar alguns gêneros principais como o *Enterobacter*, o *Klebsiella*, o *Citrobacter* e, o mais importante deles, o *Escherichia*⁽²¹⁾. Houve diferença significativa nas concentrações 0, 27 e 108 mg.Kg⁻¹. Com esse resultado observa-se que a adição de óleo essencial de capim-limão, nas concentrações estudadas não interfere, nem favorável e nem desfavoravelmente, no parâmetro contagem de coliformes 30 °C do queijo *Petit Suisse* adicionado de óleo essencial de capim-limão.

Com relação aos tempos observou-se que no tempo 1, um dia após processamento, o maior valor encontrado ocorreu na concentração de 108 mg.Kg⁻¹ de óleo essencial e o menor valor encontrado ocorreu na concentração de 53 mg.Kg⁻¹ de óleo essencial. No tempo 15 dias pós-processamento os maiores resultados encontrados foram nas concentrações 0 e 27 mg.Kg⁻¹ e os menores nas concentrações 53, 108 e 161 mg.Kg⁻¹ de óleo essencial. No tempo 30 dias pós-processamento os maiores resultados encontrados foram nas concentrações 215 mg.Kg⁻¹ e os menores nas demais concentrações. No tempo 45 dias pós-processamento os maiores resultado foram encontrados nas concentrações 161 e 215 mg.Kg⁻¹ de óleo essencial e os menores nas demais concentrações. Com estas observações verificou-se que não há uma relação direta entre o tempo de processamento e as concentrações do óleo essencial de capim-limão na microbiota de microrganismos do grupo *Enterobacteriaceae*.

As contagens de Coliformes termotolerantes encontradas no queijo *Petit Suisse* adicionado de óleo essencial de capim-limão se mantiveram dentro dos padrões da legislação vigente⁽¹⁴⁾ não alterando de forma significativa nas diversas concentrações e nos diversos tempos pós-processamento, logo o óleo essencial de capim-limão não interfere no crescimento de

coliformes termotolerantes, nas diversas concentrações utilizadas e em seu período de *Shelf Life*. Veiga, Cunha, Viotto e Petenate⁽¹⁹⁾, analisando queijos *Petit Suisse* ofertados no mercado nacional não encontrou crescimento de coliformes termotolerantes nas amostras avaliadas.

O *Staphylococcus aureus* é um microrganismo indicador de importância para as Boas Práticas de Fabricação, principalmente no que se refere à manipulação de alimentos⁽²²⁾. Nas análises do queijo *Petit Suisse* adicionado de óleo essencial de capim-limão não foram encontrados valores médios superiores ao padrão legal, estipulados pela Portaria 146/1996 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento⁽¹⁴⁾.

Os resultados das contagens de *S. aureus* e também o de Leveduras e Fungos filamentosos não apresentaram diferenças significativas nas diversas concentrações de óleo essencial de capim-limão. No entanto, houve variações entre as amostras nos diversos tempos de processamento tanto para as contagens de *S. aureus* quanto para as contagens de Leveduras e Fungos filamentosos. Porém, para ambos os parâmetros não foi possível correlacionar essas maiores contagens nos tempos 15 e 30 dias com a influência do óleo essencial. O fato de não encontrarmos presença tanto de *S. aureus* quanto de Leveduras e Fungos filamentosos no tempo 45 dias pode estar mais relacionado ao aumento da acidez natural do produto próximo ao final da vida de prateleira do que à ação do óleo essencial. Veiga et al.⁽¹⁹⁾ avaliando diferentes marcas de queijo *Petit Suisse* disponíveis no mercado encontraram resultados de Leveduras e Fungos filamentosos variando entre 30 UFC/g a 450 UFC/g.

Conclusões

Com base nas avaliações dos dados analíticos dos exames laboratoriais realizados, bem como em função do processamento do queijo *Petit Suisse*, conclui-se que a adição do óleo essencial de capim-limão, nas concentrações avaliadas (27, 53, 108, 161 e 215 mg.Kg⁻¹) não descaracterizam o queijo *Petit Suisse* nos parâmetros físico-químicos e microbiológicos analisados, durante o seu tempo de vida de prateleira de 45 dias.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas (IFSULDEMINAS), pelo apoio e incentivo.

Referências

1. Anvisa. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 2002.
Disponível em: <http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>. Acesso em: 30 ago 2017. Portuguese.
2. Araújo JMA. Química de alimentos – teoria e prática. 6th ed. Viçosa-MG: Editora UFV; 2015. 668p. Portuguese.
3. Damodaran S, Parkin KL, Fennema OR. Química de alimentos de Fennema. 4th ed. Porto Alegre-RS: Editora ArtMed; 2010. 900p. Portuguese.
4. Ravinder K, Pawan K, Gaurav S, Paramjot K, Gagan S, Appramdeep K. Pharmacognostical investigation of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. Der Pharmacia Lettre, 2010;(2)2:181-189.
5. Borosky M, Visentainer JV, Cottica SM, Morais DR. Antioxidantes, princípios e métodos analíticos. 1st ed. Curitiba-PR: Editora Appris; 2015. 139p. Portuguese.
6. Sacchetti G, Maietti S, Muzzoli M, Scaglianti M, Manfredini S, Radice M, Bruni R. Comparative of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food Chemistry. 2005;(91)4:621-632.
7. Dudai N, Weinstein Y, Krup M, Rabinski T, Ofir R. Citral is a new inducer of caspase-3 in tumor cell lines. Planta Medica. 2005;(71)5:484-488.
8. Saad SMI, Cruz AG, Faria JAF. Probióticos e prebióticos em alimentos – fundamentos e aplicações tecnológicas. 1th ed. São Paulo-SP: Livraria Varela; 2011. 669p. Portuguese.
9. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 53 de 29 de dezembro de 2000. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo *Petit Suisse*. Diário Oficial da União, 2000. Portuguese.
10. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília-DF. 2011. Portuguese.
11. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 68 de 12 de dezembro de 2006. Métodos analíticos oficiais físico-químicos para controle de leite e derivados e produtos lácteos. Diário Oficial da União, 2006. Portuguese.
12. Skoog DA, Holler FJ, Nielman AT. Princípios de análise instrumental. 6st ed. Porto Alegre-RS: Bookman; 2009. 1056p. Portuguese.
13. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais microbiológicos para controle de produtos de origem animal e água. Diário Oficial da União, 2003. Portuguese.
14. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. Diário Oficial da União, 1996. Portuguese.

15. Zimmermann FJP. Estatística aplicada à pesquisa agropecuária. 2nd ed. Brasília-DF: Embrapa; 2014. 582p. Portuguese.
16. Barbosa JC, Maldonado Jr W. Experimentação agrônômica & AgroEstat – sistema para análises estatísticas de ensaios agronômicos. 1th ed. Jaboticabal-SP: Gráfica Multipress; 2015. 396p. Portuguese.
17. Minitab® Inc. Statistical Software Data Analysis Software. Versão 18, 2017.
18. Paixão MG, Ribeiro OAS, Fonseca RL, Resende CPA, Pinto SM, Abreu LR. Caracterização físico-química de queijos *Petit Suisse* comercializados na região de Lavras-MG e adequação dos rótulos quanto à legislação. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes. 2011;383(66):5-12.
19. Veiga PG, Cunha RL, Viotto WH, Petenate AJ. Caracterização química, reológica e aceitação sensorial do queijo *Petit Suisse* brasileiro. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2000;20(3):349-357.
20. Souza VR, Pereira PAP, Gomes UJ, Carneiro JDS. Avaliação e definição do perfil de textura ideal de queijo *Petit Suisse*. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes. 2011;382(66):48-53.
21. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. 1th ed. São Paulo-SP: Editora Atheneu; 2005. 196p. Portuguese.
22. Forsythe SJ. Microbiologia da segurança alimentar. 1th ed. Porto Alegre-RS: Editora ArtMed; 2002. 424p. Portuguese.