

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ELABORAÇÃO DE QUEIJO DE LEITE CRU MATURADO
COM COBERTURA DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*)

Autor: Elisângela De Cesaro

Orientador: Prof. Dra. Paula Toshimi Matumoto Pinto

Maringá

Estado do Paraná

Fevereiro 2020

ELABORAÇÃO DE QUEIJO DE LEITE CRU MATURADO COM COBERTURA DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis*)

Autor: Elisângela De Cesaro

Orientador: Prof. Dra. Paula Toshimi Matumoto Pintro

Dissertação apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá Área de concentração Produção Animal.

Maringá
Estado do Paraná
Fevereiro 2020

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

C421e Cesaro, Elisângela de
Elaboração de queijo de leite cru maturado com
cobertura de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) /
Elisângela de Cesaro. -- Maringá, PR, 2020.
vi, 52 f.: il. tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Paula Toshimi Matumoto
Pintro.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento
de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia, 2020.

1. Queijo. 2. Antioxidantes. 3. Erva-mate. 4.
Compostos bioativos. 5. Reações bioquímicas -
Alimentos. I. Matumoto-Pintro, Paula Toshimi,
orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro
de Ciências Agrárias. Departamento de Zootecnia.
Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDD 23.ed. 637.3



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

ELABORAÇÃO DE QUEIJO DE LEITE CRU MATURADO
COM COBERTURA DE ERVA MATE
(*ILEX PARAGUARIENSIS*)

Autora: Elisângela De Cesaro
Orientadora: Prof^a Dr^a Paula Toshimi Matumoto Pinto

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal

APROVADA em 28 de fevereiro de 2020.

Prof^a Dr^a Magali Soares dos
Santos Pozza

Prof^a Dr^a Raquel Gutierrez Gomes

Prof^a Dr^a Paula Toshimi Matumoto Pinto
Orientadora

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela vida e saúde pra caminhar e evoluir todos os dias.

À Universidade Estadual de Maringá, ao Departamento de Zootecnia e ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade de poder realizar o projeto de Mestrado nesta instituição.

À minha família, meu esposo Sidnei, filhos Bruno e Angelo pelo amor, carinho e apoio incondicional.

Minhas guerreiras mãe Helena e irmã Elaine Edi, Moacir, sobrinhos e tios próximos e distantes, pelo auxílio, incentivo e acolhida. Meu pai Eli José (*in memoria*) e meus irmãos Eleni (*in memoria*) e Elieder (*in memoria*) que de outro plano também me deram força.

Meus sogros Adair e Nelda, cunhadas (os) e sobrinhos pela força e torcida de sempre.

À professora Paula Toshimi Matumoto Pintro pela orientação, paciência e ensinamentos construídos.

À Dra Ana Carolina Pelaes Vital pelo norte e suporte.

Aos colegas de Pós-Graduação do Laboratório de Tecnologia de Transformação e Conservação de Produtos Agropecuários, Ana, Anderson, Bianka, Fernando, Heloísa e Lucas, pelo aprendizado, pelas trocas, força e companheirismo de todos os dias.

Aos servidores, professores e acadêmicos que auxiliaram na execução do trabalho.

À família do Sr. Mário Zanetti, pela parceria, por ceder o material e o espaço físico para elaboração dos queijos.

À empresa Bela Vista, pelo envio de microrganismos lácticos para aplicação no experimento.

BIOGRAFIA

Elisângela De Cesaro nasceu em Serafina Corrêa – RS, no dia 31/05/1982, filha de Eli José De Cesaro (*in memoriam*) e Helena Maria Damo De Cesaro.

Iniciou os estudos no ensino fundamental na Escola Estadual de 1º Grau Incompleto Santa Ana, em 1988, seguindo para o ensino médio na Escola Estadual Carneiro de Campos de 1992 até 1998, obtendo a formação em secretariado executivo.

Em agosto de 2006, iniciou no Curso de Zootecnia pela Universidade Federal de Santa Maria de Palmeira das Missões (UFSM/CESNORS), vindo a concluir o curso em dezembro de 2010.

Em maio de 2014, ingressou no curso de Especialização em Gestão e Docência no Ensino Superior, pela CELLER Faculdades de Santa Catarina, vindo a concluir o mesmo em julho de 2015.

Em março de 2018, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, em nível de Mestrado, na área de Produção Animal. Em fevereiro de 2020, submeteu-se à banca para defesa da Dissertação de mestrado.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	vi
RESUMO	7
ABSTRACT	8
I - INTRODUÇÃO.....	9
1 REVISÃO DE LITERATURA	11
1.1 Queijo.....	11
1.2 Legislação	12
1.3 Microrganismos	13
1.4 Maturação.....	15
1.5 Coberturas em queijo	17
1.6 Erva-mate e seus compostos	18
II CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	20
REFERÊNCIAS.....	21
III OBJETIVO GERAL	32
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	32
Efeito de cobertura ativa de erva-mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St.-Hil.) em queijo maturado feito com leite cru	33
Effect of yerba mate (<i>Ilex paraguariensis</i> St.-Hil.) coating on ripened cheese made with raw milk	34
1. Introdução	35
2. Materiais e métodos	37
2.1 Materiais.....	37
2.2 Compostos bioativos e atividade antioxidante.....	37
2.3 Compostos fenólicos totais	37

2.4 Flavonoides	38
2.5 Sequestro do radical livre ABTS.....	38
2.6 Poder antioxidante de redução do ferro.....	38
2.7 Elaboração dos queijos com leite cru e aplicação de cobertura	39
2.8 Caracterização físico-química dos queijos de leite cru	39
2.9 Medidas e perda de umidade.....	40
2.10 Análises Instrumentais	40
2.11 Determinação da oxidação lipídica	40
2.12 Análises microbiológicas	41
2.13 Análise estatística.....	41
3. Resultados e discussão	41
3.1 Propriedades físico-químicas do queijo com cobertura	41
3.2 Características do queijo com cobertura	44
3.2.1 Compostos bioativos e atividade antioxidante	44
3.2.2 Oxidação lipídica	45
3.3 Análises microbiológicas	46
4. Conclusões	46
Referências.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição centesimal de EM comercial na matéria seca.....	18
Tabela 2: Composição de queijos de leite cru com cobertura de erva-mate (EM) durante 60 dias de maturação a 8°C.....	54
Tabela 3: Propriedades físico químicas de queijos de leite cru com cobertura de erva-mate (EM) durante 60 dias de maturação a 8°C.	55
Tabela 4: Coloração interna de queijos de leite cru com cobertura de erva-mate (EM), durante 60 dias de maturação a 8°C.....	56
Tabela 5: Compostos bioativos e atividade antioxidante de queijos de leite cru com cobertura de erva-mate (EM) durante 60 dias de maturação a 8°C	57
Tabela 6: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS-mg/Kg) de queijos de leite cru com cobertura de erva-mate (EM) durante 60 dias de maturação a 8°C.....	58

RESUMO

Nos últimos anos, vem crescendo o interesse no uso de produtos naturais, compostos bioativos, antioxidantes e bactérias iniciadoras na produção e conservação de produtos lácteos. A indústria do queijo é um dos setores que esses produtos têm grande oportunidade de aplicação. Este trabalho teve como objetivo utilizar a erva-mate (EM) como cobertura em queijos de leite cru, com *Lactococcus lactis* ssp *lactis* FX-01, aplicada nos dias 5, 10 e 20, para avaliar seus efeitos durante 60 dias de maturação. O uso da cobertura de erva-mate aplicada como cobertura seca, fez com que os queijos absorvessem seus compostos, reduziu a perda de peso e impediu a deterioração lipídica através da sua ação antioxidante. O *Lactococcus lactis* ssp *lactis* FX-01, como cultura iniciadora, permitiu controlar o pH dos queijos, apresentando no dia 60, média de 4,46%, acelerou a conversão dos açúcares em ácido lático aumentando a acidez até o 20º dia (0,77%) apresentando estabilidade a partir do dia 40 (0,66%), característica de queijo maturado. A coalhada se tornou mais firme devido às reações químicas e microbiológicas do ambiente interno, sendo o tratamento com aplicação da erva-mate no dia 5 (T5) o que apresentou menor dureza (19,30Kg), como efeito de camada protetora da erva-mate que favoreceu a diminuição da perda de umidade para o meio, contrastando com o tratamento sem cobertura (TC) que apresentou maior perda de umidade (12,80%) e maior dureza (59,59Kg). O tratamento que recebeu a erva-mate no dia 5 (T5), foi o que apresentou maiores valores para absorção de compostos bioativos entre os tratamentos e maior coloração de b* no dia 60, características de ponto de maturação. Assim, tem-se na aplicação de erva-mate com adição de bactéria iniciadora, uma alternativa viável para melhorar os efeitos da maturação em queijos de leite cru.

Palavras-chave: antioxidantes, bactéria iniciadora, compostos bioativos, reações bioquímicas

ABSTRACT

In recent years, interest in the use of natural products, bioactive compounds, antioxidants and initiating bacteria in dairy products production and conservation has been growing. The cheese industry is one of the sectors in which these products have great application opportunities. This work aimed to use yerba mate (YM) as a topping on raw milk cheeses, with *Lactococcus lactis* ssp *lactis* FX-01, applied on the 5th, 10th and 20th, to evaluate its effects during 60 days of ripening. The use of the yerba mate applied as dry coating, made the cheeses absorb their compounds, reduced weight loss and prevented the lipid deterioration through its antioxidant action. *Lactococcus lactis* ssp *lactis* FX-01, as a starter culture, allowed the cheeses pH controlling, presenting an average of 4.46% on day 60, accelerated the sugars conversion into lactic acid, increasing acidity until the 20th day (0.77%) showing stability from day 40 (0.66%), characteristic of ripened cheese. The curd became firmer due to the chemical and microbiological reactions of the internal environment, and the treatment with the yerba mate application on day 5 (T5) showed the least hardness (19.30Kg), as a protective layer effect of yerba mate which favored the reduction of moisture loss to the medium, in contrast to the treatment without coating (CT), which presented greater moisture loss (12.80%) and greater hardness (59.59 kg). The treatment that received yerba mate on day 5 (T5), was the one with the highest values for bioactive compounds absorption between treatments and the greatest b * color on day 60, characteristics of ripened point. Thus, we have in the yerba mate application with the addition of starter bacteria, a viable alternative to improve the ripened effects in raw milk cheeses.

Key-words: antioxidants, bioactive compounds, biochemical reactions, starter bacteria

I - INTRODUÇÃO

O queijo elaborado a partir de leite cru é considerado maturado após 60 dias de armazenamento (Brasil, 2018). A produção de queijos de leite cru é regional, com classificações de origem em todo o mundo, com diferentes características e sempre observando a qualidade do produto a ser elaborado. A adição de iniciadores microbianos naturais favorece a manutenção da qualidade e das características dos queijos de leite cru (Martins et al., 2015).

As bactérias iniciadoras aceleram a redução do pH, são benéficas no controle dos patogênicos naturais do leite, favorecendo as reações bioquímicas que determinarão as qualidades sensoriais dos queijos de leite cru durante o período de maturação. O *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01 é uma bactéria mesofílica, Gram-positiva, tolerante aos ácidos e estritamente fermentativa, tem como principal produto final metabólico de carboidratos o ácido lático. Utilizada pela indústria no início do processo de elaboração de queijos para acelerar o processo, melhorando a qualidade estrutural e microbiológica do gel da coalhada (Peterson, Marshall & Heymann, 1990; Azarnia, Robert & Lee, 2006; Fox, Guinee, Cogan & McSweeney, 2017; Van Mastrigt, et al., 2018).

Os processos oxidativos nos alimentos com elevados teores de lipídeos como queijos podem causar não só perdas sensoriais, mas também nutricionais, e geralmente são desencadeados pelo ataque dos radicais livres (Delgado, González-Crespo, Cava & Ramírez, 2011; Fox, Guinee, Cogan & McSweeney, 2017).

Os compostos bioativos estão presentes na composição dos alimentos e podem apresentar propriedades antioxidantes, capacidade de prevenir e retardar o surgimento de doenças combatendo o ataque dos radicais livres. O uso de antioxidantes se justifica por diminuir ou inibir a oxidação nos alimentos e manter a qualidade dos mesmos durante a vida de prateleira (Han et al., 2011; Mohan, Ravishankar, Lalitha & Srinivasa Gopal, 2012; Giroux et al., 2013).

A cobertura pode empregar o uso de polissacarídeos, proteínas e lipídios, ou simplesmente ingredientes com características funcionais. As coberturas ativas podem atuar como carreadoras de compostos bioativos e antioxidantes naturais, o emprego de coberturas em alimentos pode influenciar no controle da umidade, permeabilidade de gases, migração de lipídios, aumento da vida de prateleira do alimento, e pode transferir compostos ao alimento (Cerqueira et al., 2010; Sánchez-González et al., 2011; Ollé Resa, Gerschenson & Jagus, 2012; Mastromatteo et al., 2014; Vital et al., 2016; Valdés et al., 2017; Berti et al., 2019).

A *Ilex paraguariensis* (erva-mate) é uma planta nativa das regiões subtropicais e temperadas da América do Sul, como Argentina, Brasil e Paraguai, comumente utilizada no preparo de infusões a quente (Chimarrão) e a frio (Tereré). Estudos mostram que a erva-mate possui ação antioxidante, prevenindo e retardando o surgimento de doenças e processos oxidativos (Filip, Lotito, Ferraro & Fraga, 2000; Bravo et al., 2014; Cardozo Junior & Morand, 2016).

A correlação existente entre a atividade antioxidante e o total de compostos fenólicos da *Ilex paraguariensis* é pelo elevado conteúdo de derivados de cafeiol presentes em seus extratos, podendo ser utilizada como ingrediente funcional na elaboração de produtos alimentícios, assim como na elaboração de coberturas ativas (Filip, Lotito, Ferraro, & Fraga, 2000; Cardozo Junior & Morand, 2016).

A adição de erva-mate como cobertura, e *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01 como bactéria iniciadora, torna-se alternativa viável para melhorar os efeitos da maturação em queijo elaborado a partir de leite cru.

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Queijo

O queijo é definido como o produto fresco ou maturado obtido da coagulação do leite, em que ocorre a formação de uma massa de gel rico em componentes nutricionais, constituindo assim importante fonte de proteínas, ácidos graxos de cadeia curta, vitaminas e minerais. O queijo pode ser classificado com base no tipo de leite utilizado, processo de fabricação, teor de gordura, tipo de fermentação e sua microbiota, que a partir de uma diversidade de reações bioquímicas, pode ser conservado e melhorado com relação à qualidade (Codex Alimentarius Commission, 1978). Diversificado em texturas, aromas, sabores e formas, o queijo faz parte da dieta regular dos consumidores (Santiago-López et al., 2018).

O consumo de queijo aumentou significativamente ao longo dos anos em todo o mundo, a União Europeia é o principal produtor de queijos, elaborando cerca de 45% do total mundial (IDF, 2016). O processo básico é o mesmo, o leite seja de vaca, cabra ou ovelha, é pasteurizado e adicionado de enzimas, se for utilizado leite cru, geralmente há adição de bactérias iniciadoras na elaboração e no período de maturação. O resultante é um produto de gel sólido da aglomeração de proteínas de caseína induzido por coagulante, de acordo com o tipo de queijo que se pretende obter no final. Produtos frescos ou maturados, com ou sem olhaduras, adicionados de fungos, enzimas ou bactérias, os complementos e variações durante elaboração e maturação é que denominam os diferentes tipos de queijo (Fox, Uniacke-Lowe, McSweeney & O'Mahony, 2015; McSweeney, Ottogalli & Fox, 2017).

Queijos elaborados com leite cru contêm compostos voláteis em grandes quantidades, como ácidos, ésteres e álcoois que resultam da fermentação do leite pela sua microbiota natural (Ocak, Javidipour & Tuncturk, 2014). A pasteurização é uma importante medida de segurança para os produtos lácteos, eliminando patógenos do leite cru. O processo possui restrições por causa da eliminação das bactérias microbianas nativas, população responsável pelo componente aromatizante na maioria dos queijos tradicionais fabricados a partir de leite cru (Gobbetti, Neviani & Fox, 2018).

1.2 Legislação

O decreto Nº 9.013, de 29 de março de 2017, regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Especifica o que diz respeito a produção de queijos de leite cru, no Capítulo V - dos padrões de identidade e qualidade do leite e derivados, subseção III - Dos queijos:

§ 6º Fica excluído da obrigação de pasteurização ou de outro tratamento térmico o leite que se destine à elaboração dos queijos submetidos a um processo de maturação a uma temperatura superior a 5°C (cinco graus Celsius), durante um período não inferior a sessenta dias.

§ 7º O período mínimo de maturação de queijos de que trata o § 6º poderá ser alterado, após a realização de estudos científicos conclusivos sobre a inocuidade do produto ou em casos previstos em RTIQ (Brasil, 2017).

O inciso 6º permite a fabricação de queijo a partir de leite cru, mas estabelece prazo mínimo de 60 dias para maturação, visando a proteção e saúde do consumidor à zoonoses, porém, o inciso 7º, cita que este prazo pode ser alterado mediante comprovação científica da qualidade do produto (Brasil, 2017). De acordo com a Legislação, os queijos consumidos com menos de 60 dias devem ser fabricados com leite pasteurizado para garantir a segurança do produto, no entanto, queijos tradicionais que não foram projetados para amadurecimento prolongado, como o francês Camembert, pode ter risco aumentado de incidência de *Listeria monocytogenes* quando maturados por 60 dias (D'Amico, Druart & Donnelly, 2008). Da mesma forma, queijos brasileiros tradicionais, como os queijos Serro, Canastra, Serrano e Colonial, são consumidos há décadas sem processo de maturação (Cruz e Menasche, 2014).

O governo fez alterações recentes na Legislação com a finalidade de especificar como produto artesanal, um produto de origem e qualidade comprovadas, para minimizar as barreiras da lei que dão margem à ilegalidade e, ao mesmo tempo, garantir aos consumidores um produto saudável e nutritivo. Conforme Art. 1º da Lei Nº 13.860, de 18 de julho de 2019, considera-se queijo artesanal aquele elaborado por métodos tradicionais, com vinculação e valorização territorial, regional ou cultural, conforme

protocolo de elaboração, estabelecido para cada tipo e variedade, e com emprego de boas práticas agropecuárias e de fabricação (Brasil, 2019).

No Brasil, o queijo artesanal do tipo colonial é feito de leite cru, sendo o principal produto de venda de agricultores da região sul do Brasil (Carvalho, De Dea Lindner, & Fariña, 2015). De acordo com o último censo agrícola brasileiro, a produção artesanal de queijo em Santa Catarina envolve mais de 15.200 propriedades, com produção anual estimada em 8.210 t (IBGE, 2017a).

1.3 Microrganismos

O leite foi considerado por algum tempo como sendo essencialmente estéril, sabe-se que mesmo no úbere de animais saudáveis pode conter microrganismos. No entanto, a carga microbiana é pequena em relação à introduzida durante a ordenha e maturação (Quigley et al., 2013; Oikonomou et al., 2014).

A rapidez e o grau de resfriamento do leite após a ordenha têm um impacto significativo no conteúdo microbiano. Resfriamento até 4°C retarda o crescimento da maioria dos microrganismos, porém, bactérias psicotróficas, como *Pseudomonas* e *Acinetobacter*, continuam a crescer lentamente (Quigley et al., 2013). Algumas dessas bactérias podem produzir enzimas resistentes ao calor que não são inativadas por tratamentos de alta temperatura e, portanto, podem continuar causando deterioração, mesmo após a morte do microrganismo produtor (Von Neubeck et al., 2015).

Os queijos de leite cru são conhecidos como microbiologicamente inseguros, porque não há tratamento térmico aplicado para destruir bactérias patogênicas. *Salmonella* spp., pode ser encontrada em queijos feitos a partir de leite cru e não sobrevive à pasteurização (Villarruel-Lopez et al., 2016). *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* são patógenos comuns transmitidos por alimentos crus e uma causa de infecções graves em humanos. A *L. monocytogenes* sobrevive e cresce em condições aeróbicas e anaeróbicas, sendo limitada em pH 4,0, temperatura baixa e embalagens a vácuo (Bellio, et al., 2016). No entanto, eles também podem ser introduzidos no queijo como contaminantes após a pasteurização, se o processo não for adequadamente controlado, permitindo a presença da bactéria em queijos oriundos de leite pasteurizado ou cru.

As espécies de microrganismos presentes no leite e sua relação com o processo de produção, a interação simbiótica de bactérias do ácido láctico, a cinética de

desenvolvimento, espécies e biotipos envolvidos na caracterização de diferentes queijos, são determinantes para um produto de qualidade. Culturas iniciais são adicionadas ao processo, favorecendo a inibição de possíveis patógenos durante a maturação (De Dea Lindner et al., 2008; Fox, Guinee, Cogan & McSweeney, 2017).

Estudos relatam bloqueio no crescimento de *L. monocytogenes*, *L. innocua* e *S. aureus* pela microbiota interna em queijos de leite cru, porém ainda não determinaram qual a bactéria responsável por esta ação (Masoud et al., 2012). O queijo de leite cru mexicano Oaxaca exibe atividade antimicrobiana contra certas espécies patogênicas como *S. aureus* produtor de enterotoxina e *L. innocua* e, tem o *Lactobacillus plantarum* como predominante na microbiota natural (Caro et al., 2013). Da mesma forma, importantes patógenos transmitidos por alimentos, incluindo *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. e *S. aureus* foram pouco encontrados no leite cru e queijo de massa mole, pela atividade antagônica de bactérias lácticas naturais (Ortolani et al., 2010).

Microrganismos, como bactérias, leveduras e bolores podem estar presentes no queijo durante a maturação, de forma positiva ou deteriorante, causando aromas indesejáveis que proporcionem perda de qualidade ou riscos à saúde pública (Beresford & Williams, 2004; Moatsou et al., 2015). Cepas de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, reconhecido como seguro (*Generally Recognized As Safe* - GRAS) por *Food and Drug Administration*-FDA, produzem nisina, um peptídeo antimicrobiano aplicado em queijos (FDA, 2011; 2018).

As culturas iniciadoras liofilizadas necessitam de um período de adaptação com o meio, que deve ser sincronizado com o tempo de ação do coalho, gerando uma massa firme, com menor umidade, principalmente quando se trata de queijos em que a perda de umidade é essencial, como nos maturados. A adição de culturas adjuntas acidifica o meio antes de acrescentar o coalho, aumenta a proteólise e os aminoácidos livres no queijo (Fox, Guinee, Cogan & McSweeney, 2017).

As bactérias iniciadoras *Lactococcus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii*, e *Lactobacillus helveticus* (chamadas de *starter*), são as principais responsáveis pela produção de ácido durante a fabricação de queijos, com a finalidade de reduzir rapidamente o pH do leite a <5,3. O *Lactococcus* pode absorver glutatona, que contém enxofre, um aspecto importante no sabor do queijo durante a maturação (Andiç, Tunçtürk & Boran, 2015; Terpou et al., 2018).

A microbiota secundária pode ser dividida em vários grupos, incluindo bactérias do ácido láctico não iniciadoras (*Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* e

Leuconostoc. A microbiota secundária está envolvida com as bactérias iniciadoras no processo de maturação (Cogan et al., 1997; Porcellato, Magri & Narvhus, 2015).

1.4 Maturação

O processo de maturação do queijo é um período de cura, a parte do processo de conservação de queijos em que o fator mais ponderável é a perda de umidade. Esse período desencadeia modificações bioquímicas como proteólise e lipólise, transformando um queijo de massa dura e firme, em diferentes e variadas texturas, aromas e sabores (Arenas et al., 2014).

É um processo que constitui uma sequência de eventos bioquímicos e microbiológicos, mediados pelo fluxo metabólico dos níveis primários e das culturas adjuntas. Períodos de maturação testados com queijo fresco, em adequadas condições de armazenamento, mostraram que microrganismos patogênicos (*Staphylococcus aureus*, Coliformes totais) presentes em grande número no início, foram dificilmente detectáveis ao final do período de maturação (Cardoso et al., 2013; Fox, Uniacke-Lowe, McSweeney & O'Mahony, 2015; Brasil, 2017).

A necessidade de 60 dias de maturação para que ocorra a total inativação da microbiota patogênica depende de vários fatores, como o tipo de queijo, espécies microbianas e número inicial de colônias presentes na massa do queijo. Portanto, os 60 dias de maturação podem reduzir as contagens de Coliformes totais e *Staphylococcus aureus*, mas não são considerados uma solução para a inativação total de patógenos (Yoon, Lee, & Choi, 2016). Diversos microrganismos presentes na microbiota dos queijos estão associados com a maturação, principalmente as bactérias do ácido láctico, bactérias Gram-positivas, tolerantes a ácidos e estritamente fermentativas, que produzem ácido láctico como principal produto final do metabolismo de carboidratos (Von Neubeck, et al., 2015).

O desenvolvimento do sabor no queijo é um processo influenciado principalmente pela composição do leite, culturas e enzimas presentes ou adicionadas e, pelas diferentes condições de fabricação e maturação empregadas (Khattab, Guirguis, Tawfik, & Farag, 2019). Semelhante em vários queijos, a maturação em baixa temperatura (5–13°C) por meses e, às vezes anos, para atingir o sabor e os atributos sensoriais desejados, permite a ação de microrganismos e enzimas presentes no queijo, que atuam sobre os substratos da coalhada de maneira a expressar as características do

queijo através do microambiente da coalhada (pH do queijo, atividade da água, teor de sal e temperatura) (Fox & Stepaniak, 1993; Fox & Wallace, 1997).

As principais alterações bioquímicas relacionadas à maturação envolvem catabolismo da lactose residual, citrato, lipólise e proteólise, seguidas por desaminação, descarboxilação e dessulfurilação de aminoácidos, β -oxidação de ácidos graxos, e catabolismo do ácido láctico. A caseína forma cadeias polipeptídicas catalisadas pelas proteinases e peptidases, originando aminoácidos de cadeia ramificada e aromáticos que, sofrem degradação em compostos orgânicos voláteis através da descarboxilação e da desaminação, originando aminas biogênicas (relacionada a aromas desagradáveis), ésteres e aldeídos. A metionina origina compostos de enxofre, que são absorvidos por algumas cepas de *L. lactis*. A lactose residual é degradada pelas bactérias starter em lactato e oxidada pelas NSLAB em acetato, o citrato é transformado em acetato e diacetil (confere sabor amanteigado), butanona e butanodiol. (Khattab, Guirguis, Tawfik, & Farag, 2019).

A mistura heterogênea de sabores e aromas, compostos voláteis e não voláteis que confere sabor característico aos queijos maturados (Smit, Smit, & Engels, 2005; Ardö, 2006) determina a variabilidade das propriedades do mesmo, que pode também ser originada a partir do crescimento incontrollável e interação da flora do queijo (Cocolin et al., 2017). A classificação das variedades de queijos apresenta uma série de características como textura, teor de umidade, método de coagulação e índice de maturação (McSweeney, Ottogalli, & Fox, 2017).

A forma como o queijo é maturado, o ambiente, sem ou com embalagem, influencia diretamente na determinação do tipo, na formação dos compostos voláteis, no tempo e no custo de maturação. Características como a produção de gás que origina fissuras no queijo, ou expulsão de líquido, levando à formação de cristais de lactato de cálcio na superfície dos queijos estão associados aos defeitos (Agarwal et al., 2006; Ortakci, Broadbent, Oberg & McMahon, 2015).

Uma das principais perdas de produto ocorre durante a maturação, em que é comum a contaminação do queijo por bactérias, bolores e leveduras (Fajardo et al., 2010) e, portanto, pode ocorrer o desenvolvimento de sabores estranhos, diminuindo a qualidade do queijo, principalmente quando maturado sem embalagem. Queijos maturados em temperatura ambiente favorecem a oxidação e a desaminação (McSweeney, 2011). Os ácidos carboxílicos produzidos durante a maturação incluem ácido butírico, que possui sabor rançoso, ácido pentanoico com sabor gorduroso (Gan,

Yan, Linforth & Fisk, 2016), ácido glutâmico (McSweeney, Ottogalli & Fox, 2004) responsável por conferir sabor umami ao queijo, entre outros (Iwasawa, Suzuki-Iwashima, Iida & Shiota, 2014).

O período de maturação interfere no grau de proteólise, que aumenta em função do tempo de maturação. O aumento do período de maturação está associado ao desenvolvimento do sabor amargo pelo aumento da formação de peptídeos amargos, que são principalmente derivados da β -caseína (Karametsi, Kokkinidou, Ronningen & Peterson, 2014). Por exemplo, para o queijo tratado com salmoura é recomendado período de maturação de menos dias para evitar a amargor excessivo (Sahingil, Hayaloglu, Simsek & Ozer, 2014).

1.5 Coberturas em queijo

Coberturas comestíveis geralmente são formadas pela associação de proteínas e polissacarídeos e podem ser aplicadas por imersão, borrifadas ou fixadas manualmente (Lu et al. 2009). Geralmente ocorre a formação de gel, e após a fixação a cobertura seca e forma uma camada protetora, usada principalmente para prolongar o prazo de validade e preservar a qualidade dos alimentos (Vital, et al., 2016). A aplicação de coberturas traz benefícios ao produto como diminuição da oxidação através da redução do contato com o oxigênio, aumento da barreira que diminui a perda de água e manutenção das qualidades sensoriais (Song et al. 2011).

O uso de matérias-primas vegetais na fabricação de queijos, como cobertura ou incorporado à massa, tanto em queijos frescos quanto em maturados ainda não é convencional. Em queijos recobertos, o material vegetal está presente na casca até o momento do consumo e geralmente são ervas ou subprodutos da fabricação de vinho (Di Cagno et al., 2007; Saraiva et al., 2019).

As coberturas comestíveis, também podem ser constituídas de compostos bioativos, formando as coberturas ativas que têm sido utilizadas para reduzir os efeitos deletérios de vários fatores, incluindo perda de água e controle da taxa de maturação, crescimento microbiano indesejado e escurecimento enzimático, entre outros. As coberturas ativas podem atuar como transportadoras de aditivos alimentares, como agentes antioxidantes, palatilizantes e corantes (Qiao, Ma, Zhang & Yao, 2017; Jmróz, Juszczak & Kucharek, 2018; Arrieta, Peponi, López, & Fernández-García, 2018).

1.6 Erva-mate e seus compostos

A *Ilex paraguariensis*, espécie nativa de regiões subtropicais da América do Sul, é uma planta utilizada em infusões e chás. O consumo da erva está crescendo em todo o mundo pelos comprovados benefícios à saúde atribuídos aos compostos bioativos do mate. Nos Estados Unidos, Alemanha e Síria, a erva-mate é utilizada principalmente na produção de “chá” e bebidas energéticas (Bracesco et al., 2011; Cardozo Junior & Morand, 2016).

A produção de erva-mate nos quatro principais países produtores (Brasil, Argentina, Uruguai e Paraguai) alcançou no período de 2012-2015, a média de 530 mil toneladas, sendo 84% da produção de origem extrativista e, o Rio Grande do Sul o principal produtor nacional, com produção média de 273 mil toneladas no mesmo período. No Brasil, 80% da produção é destinada ao consumo interno (FAO, 2017; IBGE, 2017b). A composição centesimal da EM possui quantidades de proteína, lipídios, fibras e cinzas variáveis conforme a sazonalidade, região de produção, idade das plantas e estágio reprodutivo (Tabela 1).

Tabela 1: Composição centesimal de erva-mate comercial na matéria seca.

Autores	Composição centesimal (%)			
	Proteína	Lipídios	Fibra	Cinzas
Santos (2004)	9,25	4,33	52,39	5,47
Esmelindro et al. (2002)	14,49	6,76	21,10	6,01
Burgstaller (1944)	8,30	5,57	14,96	3,07
Barbosa (2006)	11,59	4,33	ND	ND
Enfing (2009)	2,08	10,91	ND	ND

ND: não determinado.

As folhas de *Ilex paraguariensis* contêm altas concentrações de compostos fenólicos, que conferem ação antioxidante à erva-mate (Riachi & Maria, 2017). O efeito antioxidante da erva-mate previne e retarda o surgimento de doenças no organismo e, a sua capacidade de sequestrar os radicais livres ainda pode evitar processos oxidativos, que causam degradação proteica e lipídica em alimentos, como os queijos, podendo alterar suas características sensoriais e nutricionais (Han et al. 2011).

Entre esses compostos bioativos, os efeitos dos polifenóis na dieta são amplamente estudados (Rodriguez-Mateos et al., 2014; Valdés et al., 2017), a maioria dos efeitos benéficos à saúde atribuídos à erva-mate estão relacionados com a fração fenólica, pelos efeitos antioxidante, anti-inflamatório e anticarcinogênico (Zhu et al.,

2014; Baeza, Sarriá, Mateos & Bravo, 2016; Ronco et al., 2016). A erva-mate também está relacionada com a prevenção da obesidade e cardioprotetora, com melhora no perfil lipídico (Habauzit & Morand, 2011; Chang-Bravo, López-Córdoba, & Martino, 2014; Santiago, et al., 2017).

Resultados importantes tanto nos produtos lácteos quanto aos consumidores no final da cadeia, justificam a aplicação de compostos fenólicos com ação antioxidante em queijos. Os complexos polifenol-proteína podem aumentar ou diminuir a atividade antioxidante dos polifenóis, atividade que pode influenciar características do queijo como sabor, cor e odor. A erva-mate pode ter ação conservante durante a maturação atribuindo compostos bioativos ao produto, aplicada como extrato ou na massa do queijo, permitindo alteração de propriedades físicas e estruturais (Brewer, et al., 2011; Han et al. 2011; Bandyopadhyay et al. 2012; Vital et al., 2015; Cardozo Junior & Morand, 2016; Saraiva et al., 2019).

II CONSIDERAÇÕES GERAIS

O uso de erva-mate como cobertura em queijos tem sido pouco explorado, apresentando-se como alternativa para verificar seus efeitos antioxidantes, de textura, sabor, e odor no queijo durante a maturação. Por isso, definiu-se como padrão de cobertura para aplicar em queijos de leite cru, a erva-mate minimamente processada, vendida comercialmente, sendo aplicada manualmente como cobertura seca, com a finalidade de delimitar os tratamentos conforme os dias de aplicação. As unidades amostrais permaneceram em ambiente com temperatura e umidade relativa controlados, durante 60 dias para maturação e análises nos dias 01, 05, 10, 20, 40 e 60.

Observou-se que as melhores propriedades tecnológicas estiveram contidas nas amostras do queijo que recebeu aplicação de erva-mate no dia 5, o tratamento 5. Este apresentou maior absorção para todos compostos bioativos analisados, menor perda de umidade, menor acidez e menor dureza, apresentando maior controle de microrganismos patogênicos e características de queijo maturado aos 20 dias de armazenamento.

REFERÊNCIAS

- Agarwal, S., Sharma, K., Swanson, B. G., Yüksel, G. Ü. & Clark, S. (2006). Nonstarter Lactic Acid Bacteria Biofilms and Calcium Lactate Crystals in Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Science*, 89(5), 1452–1466. Doi:10.3168/jds.s0022-0302(06)72213-5.
- Andiç, S., Tunçtürk, Y. & Boran, G. (2015). Changes in Volatile Compounds of Cheese. *Processing and Impact on Active Components in Food, Chapter 28*, 231–239. Doi:10.1016/b978-0-12-404699-3.00028-7.
- Ardö, Y. (2006). Flavour formation by amino acid catabolism. *Biotechnology Advances*, 24(2), 238–242. Doi:10.1016/j.biotechadv.2005.11.005.
- Arenas, R., González, L., Sacristán, N., Tornadijo, M. E. & Fresno, J. M. (2014). Compositional and biochemical changes in Genestoso cheese, a Spanish raw cow's milk variety, during ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(4), 851–859. Doi:10.1002/jsfa.7011.
- Arrieta, M. P., Peponi, L., López, D. & Fernández-García, M. (2018). Recovery of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) residue for the development of PLA-based bionanocomposite films. *Industrial Crops and Products*, 111, 317–328. Doi:10.1016/j.indcrop.2017.10.042.
- Azarnia, S., Robert, N. & Lee, B. (2006). Biotechnological methods to accelerate Cheddar cheese ripening. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2006;26:121–43.
- Baeza, G., Sarriá, B., Bravo, L. & Mateos, R. (2016). Exhaustive Qualitative LC-DAD-MSn Analysis of Arabica Green Coffee Beans: Cinnamoyl-glycosides and Cinnamoylshikimic Acids as New Polyphenols in Green Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(51), 9663–9674. Doi:10.1021/acs.jafc.6b04022.
- Bandyopadhyay, P., Ghosh, A. K. & Ghosh, C. (2012) Recent developments on polyphenol–protein interactions: effects on tea and coffee taste, antioxidant properties and the digestive system. *Food Functional* 3:592. Doi: 10.1039/c2fo00006g.
- Barboza, L. M. V. (2006). Desenvolvimento de bebida a base de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint. Hilarie) adicionada de fibra alimentar. 2006, 215f. Tese

- (Doutorado em Tecnologia de alimentos) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.
- Bellio, A., Astegiano, S., Traversa, A., Bianchi, D. M., Gallina, S., Vitale, N., Zuccon, F. & Decastelli, L. (2016). Behaviour of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in sliced, vacuum-packaged raw milk cheese stored at two different temperatures and time periods. *International Dairy Journal*, 57, 15–19. Doi:10.1016/j.idairyj.2016.02.003.
- Beresford, T. & Williams. (2004). A. The microbiology of cheese ripening. *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. Vol. 1: General Aspects, p. 287-318. London: Elsevier, 2004.
- Berti, S., Ollé Resa, C. P., Basanta, F., Gerschenson, L. N., & Jagus, R. J. (2019). Edible coatings on Gouda cheese as a barrier against external contamination during ripening. *Food Bioscience*, 31, 100447. Doi: 10.1016/j.fbio.2019.100447.
- Bracesco, N., Sanchez, A. G., Contreras, V., Menini, T. & Gugliucci, A. (2011). Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: mini review. *Journal Ethopharmacol.* 136, pp. 378-384.
- Brasil. 2017. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Decreto N° 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei N° 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei N° 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 30 de março de 2017.
- Brasil. 2018. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Lei N° 13.680, de 14 de junho de 2018 – Altera a Lei n° 1.283, de 18 de dezembro de 1950, para dispor sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, junho de 2018.
- Brasil. 2019. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Lei N° 13.860, de 18 de julho de 2019 – Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências. Decreto N° 9.918, de 18 de julho de 2019 – Regulamenta o art. 10-A da Lei N° 1.283, de 18 de dezembro de 1950, que dispõe sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, julho de 2019.

- Bravo, L., Mateos, R., Sarriá, B., Baeza, G., Lecumberri, E., Ramos, S. & Goya, L. (2014). Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) in high-cholesterol fed rats. *Fitoterapia*, 92, 219–229. Doi:10.1016/j.fitote.2013.11.007.
- Brewer, M. S. (2011). Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. *Comprehensive Reviews Food Science and Food Safety*, 10:221–247. Doi: 10.1111/j.1541-4337.2011.00156.x.
- Burgstaller, J. A. *700 Hierbas Medicinales*. Buenos Aires: Edicial, 1994.
- Cardozo Junior, E. L. & Morand, C. (2016). Interest of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) as a new natural functional food to preserve human cardiovascular health-a review. *Journal Functional Foods*. 21:440–454. Doi.org/10.1016/j.jff.2015.12.010.
- Cardoso, V. M., Dias, R. S., Soares, B. M., Clementino, L. A., Araújo, C. P. & Rosa, C. A. (2013). The influence of ripening period length and season on the microbiological parameters of a traditional Brazilian cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(3), 743–749. Doi:10.1590/s1517-83822013005000059.
- Caro, I., Mateo, J., Sandoval, M. H., Soto, S., García-Armesto, M. R. & Castro, J. M. (2013). Characterization of Oaxaca raw milk cheese microbiota with particular interest in *Lactobacillus* strains. *Journal of Dairy Science*, 96(6), 3461–3470. Doi:10.3168/jds.2012-6103.
- Carvalho, M. M., J. De Dea Lindner, & L. O. Fariña. (2015). A produção de queijo colonial artesanal no município de Seara, estado de Santa Catarina, frente à legislação brasileira. *Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes*. Ed. 70, SC, Brasil. Doi: 10.14295/2238-6416.v70i5.463.
- Cerqueira, M. A., Sousa-Gallagher, M. J., Macedo, I., Rodriguez-Aguilera, R., Souza, B. W. S., Teixeira, J. A. & Vicente, A. A., (2010). Use of galactomannan edible coating application and storage temperature for prolonging shelf-life of “Regional” cheese. *Journal of Food Engineering*, 97 (1), 87–94.
- Chang-Bravo, L., López-Córdoba, A. & Martino, M. (2014). Biopolymeric matrices 510 made of carrageenan and corn starch for the antioxidant extracts delivery of Cuban red 511 propolis and yerba mate. *Reactive and Functional Polymers*, 85(0), 11-19.
- Cocolin, L., Mataragas, M., Bourdichon, F., Doulgeraki, A., Pilet, M.-F., Jagadeesan, B., Rantsiou, K. & Phister, T. (2017). Next generation microbiological risk

- assessment meta-omics: The next need for integration. *International Journal of Food Microbiology*. Doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2017.11.008.
- Codex Alimentarius Commission. (1978). *General Codex Standard for Cheese*. CODEX STAN 283-1978. Food and Agriculture Organization (FAO), Rome, Italy. Available at: <<http://www.codexalimentarius.org>>. Accessed in: 05 Jan 2020.
- Cogan, T. M., Barbosa, M., Beuvier, E., Bianchi-Salvadori, B., Cocconcelli, P., Gomez, R., Kalantzopoulos, G., Ledda, A. & Rodriguez, E., (1997). Characterization of lactic acid bacteria in artisanal dairy products. *Journal of Dairy Research*, 64, 409–421.
- Cruz, F. T. & R. Menasche. (2014). Tradition and diversity jeopardised by food safety regulations? The Serrano cheese case, Campos de Cima da Serra region, Brasil. *Food Policy*, 45:116–124. Doi:10.1016/j.foodpol.2013.04.014.
- D’Amico, D. J., Druart, M. J. & Donnelly, C. W. (2008). 60-day aging requirement does not ensure safety of surface-mold-ripened soft cheeses manufactured from raw or pasteurized milk when *Listeria monocytogenes* is introduced as a postprocessing contaminant. *Journal of Food Protection*, 71:1563–1571.
- De Dea Lindner, J., Bernini, V., De Lorentiis, A., Pecorari, A., Neviani, E. & Gatti, M. (2008). Parmigiano Reggiano cheese: evolution of cultivable and total lactic microflora and peptidase activities during manufacture and ripening. *Dairy Science and Technology*, 88(4-5), 511–523. Doi:10.1051/dst:2008019.
- Delgado, F. J., González-Crespo, J., Cava, R. & Ramírez, R. (2011). Free Fatty Acids and Oxidative Changes of a Raw Goat Milk Cheese through Maturation. *Journal of Food Science*, 76(4), C669–C673. Doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02140.x.
- Di Cagno, R.; Buchin, S.; Candia, S.; Angelis, M.; Fox, P. F. & Gobbetti, M. (2007) Characterization of Italian cheeses ripened under nonconventional conditions. *Journal of Dairy Science*, v. 90, p. 2689-2704, 2007.
- Enfing, L. C., Caliari, T. K., Nakashima, T. & Freitas, R. J. S. de. (2009). Caracterização química e capacidade antioxidante da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) *Boletim Ceppa*, Curitiba, v. 27, n. 2, p. 241-246.
- Esmelindro, M. C., Toniazzo, G. & Waczuk, A. (2002). Caracterização físico-química da erva mate: influência das etapas do processamento industrial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 22, n. 2, p. 199-204.

- FAO, *Food and Agriculture Organization of the United Nations* (2017). Faostat. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>> . Acesso em: 24 jun. 2019.
- Fajardo, P., Martins, J. T., Fuciños, C., Pastrana, L., Teixeira, J. A. & Vicente, A. A. (2010). Evaluation of a chitosan-based edible film as carrier of natamycin to improve the storability of Saloio cheese. *Journal of Food Engineering*, 101(4), 349–356. Doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.06.029.
- FDA, Food and Drug Administration. (2011). *Code of Federal Regulations*, Title 21 e Food and Drugs, Part 133 Cheeses and Related Cheese Products. Washington, DC.
- FDA, Food and Drug Administration. (2018). *Code of Federal Regulations*, 21 of code federal regulation: Vol. 184. Washington DC: Department of Health and Human Services.
- Filip, R, Lotito, S. B., Ferraro, G. & Fraga, C. G. (2000) Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. *Nutrition Researches* 20:1437–1446. Doi:10.1016/S0271-5317(00)80024-X.
- Fox, P. F. & Stepaniak, L. (1993) Enzymes in cheese technology. *International Dairy Journal*, 3:609.
- Fox, P. F. & Wallace, J. M. (1997) Formation of flavour compounds in cheese. *Advances in Applied Microbiology*, 45:17–85
- Fox, P. F., Uniacke-Lowe, T., McSweeney, P. L. H. & O'Mahony, J. A. (2015). Dairy chemistry and biochemistry, second edition. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Doi.org/10.1007/978-3-319-14892-2.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. & McSweeney, P. L. H. (2017). Fundamentals of cheese science. *Science and Technology*. Doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004.
- Gan, H. H., Yan, B., Linfoth, R. S. T. & Fisk, I. D. (2016). Development and validation of an APCI-MS/GC–MS approach for the classification and prediction of Cheddar cheese maturity. *Food Chemistry*, 190, 442–447. Doi:10.1016/j.foodchem.2015.05.096.
- Giroux, H. J., De Grandpré, G, Fustier, P, Champagne, C. P., St-Gelais, D., Lacroix, M. & Britten, M. (2013) Production and characterization of Cheddar-type cheese enriched with green tea extract. *Dairy Science Technology*, 93:241–254. Doi: 10.1007/s13594-013-01194.

- Gobbetti, M., E. Neviani & Fox, P. F. (2018). The main characteristics of the Italian cheeses. Pages 61–88. *The Cheeses of Italy: Science and Technology*. Vol. 1. 1st ed. Springer.
- Habauzit, V. & Morand, C. (2011). Evidence for a protective effect of polyphenols-containing foods on cardiovascular health: An update for clinicians. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*, 3, 87-106. Doi: 10.1177/2040622311430006.
- Han J.; Britten, M.; St-Gelais, D.; Champagne, C. P.; Fustier, P.; Salmieri, S. & Lacroix, M. (2011). Polyphenolic compounds as functional ingredients in cheese. *Food Chemistry*, 124:1589–1594.
- IBGE, *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística*, (2017a). Disponíveis em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2017_v45_br_informativo.pdf>. Acessado em: 21/10/2019.
- IBGE, *Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística*, (2017b). Produção da Extração Vegetal e Silvicultura – SIDRA/PESV. Disponível em: <<https://sidraibge.gov.br/tabela/289>>. Acesso em: 20 jun. 2019.
- IDF. International Dairy Federation (2016). The world dairy situation. *Bulletin of the International Dairy Federation* 485/2016 - The World Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- Iwasawa, A., Suzuki-Iwashima, A., Iida, F. & Shiota, M. (2014). Effects of Flavor and Texture on the Desirability of Cheddar Cheese during Ripening. *Food Science and Technology Research*, 20(1), 23–29. Doi:10.3136/fstr.20.23.
- Jamróz, E., Juszczak, L. & Kucharek, M. (2018). Investigation of the physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of ternary potato starch-furcellaran-gelatin films incorporated with lavender essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 1094–1101. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.04.014.
- Karametsi, K., Kokkinidou, S., Ronningen, I. & Peterson, D. G. (2014). Identification of Bitter Peptides in Aged Cheddar Cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(32), 8034–8041. Doi:10.1021/jf5020654.
- Khattab, A. R., Guirguis, H. A., Tawfik, S. M. & Farag, M. A. (2019). Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science & Technology*. Doi:10.1016/j.tifs.2019.03.009.

- Lu, F., Liu, D., Ye, X., Wei, Y. & Liu, F. (2009). Alginate–calcium coating incorporating nisin and EDTA maintains the quality of fresh northern snakehead (*Channa argus*) fillets stored at 4 °C. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89:848–854.
- Martins, J. M., Galinari, E., Pimentel-Filho, N. J., Ribeiro Jr., J. I., Furtado, M. M. & Ferreira, C. L. L. F. (2015). Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese, a traditional Brazilian cheese. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46:219–230.
- Masoud, W., Vogensen, F. K., Lillevang, S., Abu Al-Soud, W., Sorensen, S. J. & Jakobsen, M. (2012). The fate of indigenous microbiota, starter cultures, *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus* in Danish raw milk and cheeses determined by pyrosequencing and quantitative real time (qRT)-PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 153(1-2), 192–202. Doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.014.
- Mastromatteo, M., Conte, A., Faccia, M., Del Nobile, M. A. & Zambrini, A. V. (2014). Combined effect of active coating and modified atmosphere packaging on prolonging the shelf life of low-moisture Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 36–45. Doi:10.3168/jds.2013-6999.
- McSweeney, P. L. H., Ottogalli, G. & Fox, P. F. (2004). Diversity of cheese varieties: An overview. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 2(C), 1–23. Doi.org/10.1016/S1874-558X(04)80037-X.
- McSweeney, P. L. H. (2011). Cheese: Biochemistry of cheese ripening. *Encyclopedia of dairy sciences*, 667–674). (2nd ed.). Doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00080-7.
- McSweeney, P. L. H., Ottogalli, G. & Fox, P. F. (2017). Diversity and Classification of Cheese Varieties: An Overview. *Cheese*, 781–808. Doi:10.1016/b978-0-12-417012-4.00031-4.
- Moatsou, G., Moschopoulou, E., Beka, A., Tsermoula, P. & Pratsis, D. (2015). Effect of natamycin-containing coating on the evolution of biochemical and microbiological parameters during the ripening and storage of ovine hard-Gruyère-type cheese. *International Dairy Journal*, 50, 1–8. Doi:10.1016/j.idairyj.2015.05.010.
- Mohan, C. O., Ravishankar, C. N., Lalitha, K. V. & Srinivasa Gopal, T. K. (2012) Effect of chitosan edible coating on the quality of double filleted Indian oil

- sardine (*Sardinella longiceps*) during chilled storage. *Food Hydrocolloids*, 26:167–174. Doi: 10.1016/j.foodhyd. 2011.05.005
- Ocak, E., Javidipour, I. & Tuncturk, Y. (2014). Volatile compounds of Van Herby cheeses produced with raw and pasteurized milks from different species. *Journal of Food Science and Technology*, 52(7), 4315–4323. Doi:10.1007/s13197-014-1458-8.
- Oikonomou, G., Bicalho, M. L., Meira, E., Rossi, R. E., Foditsch, C., Machado, V. S., Teixeira, A. G. V., Santisteban, C., Schukken, Y. H. & Bicalho, R. C. (2014). Microbiota of Cow's Milk; Distinguishing Healthy, Sub-Clinically and Clinically Diseased Quarters. *PLoS ONE*, 9(1), e85904. Doi:10.1371/journal.pone.0085904.
- Ollé Resa, C. P., Gerschenson, L. N. & Jagus, R. J. (2012). Effect of Natamycin on Physical Properties of Starch Edible Films and Their Effect on *Saccharomyces cerevisiae* Activity. *Food and Bioprocess Technology*, 6(11), 3124–3133. Doi:10.1007/s11947-012-0960-0.
- Ortakci, F., Broadbent, J. R., Oberg, C. J. & McMahon, D. J. (2015). Late blowing of Cheddar cheese induced by accelerated ripening and ribose and galactose supplementation in presence of a novel obligatory heterofermentative nonstarter *Lactobacillus wasatchensis*. *Journal of Dairy Science*, 98(11), 7460–7472. Doi:10.3168/jds.2015-9468.
- Ortolani, M. B. T., Yamazi, A. K., Moraes, P. M., Viçosa, G. N. & Nero, L. A. (2010). Microbiological Quality and Safety of Raw Milk and Soft Cheese and Detection of Autochthonous Lactic Acid Bacteria with Antagonistic Activity Against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Spp., and *Staphylococcus aureus*. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(2), 175–180. Doi:10.1089/fpd.2009.0390.
- Peterson, S. D., Marshall, R. T. & Heymann, H. (1990). Peptidase profiling of lactobacilli associated with Cheddar cheese and its application to identification and selection of strains for cheese-ripening studies. *Journal of Dairy Science*, 73: 1454–1464.
- Porcellato, D., Magri, M. & Narvhus, J. (2015). Viable cells differentiation improves microbial dynamics study of fermented milks. *International Dairy Journal*, 47, 136–142. Doi:10.1016/j.idairyj.2015.03.006.

- Qiao, C., Ma, X., Zhang, J. & Yao, J. (2017). Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films. *Food Chemistry*, 235, 45–50. Doi:10.1016/j.foodchem.2017.05.045.
- Quigley, L., O’Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F. & Cotter, P. D. (2013). The complex microbiota of raw milk. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 664–698. Doi:10.1111/1574-6976.12030.
- Riachi, L. G. & Maria, C. A. B. (2017) Yerba mate: an overview of physiological effects in humans. *Journal of Functional Foods*, 38:308–320. Doi: 10.1016/j.jff.2017.09.020.
- Rodriguez-Mateos, A., Pino-García, R. D., George, T. W., Vidal-Diez, A., Heiss, C. & Spencer, J. P. E. (2014). Impact of processing on the bioavailability and vascular effects of blueberry (poly)phenols. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58(10), 1952–1961. Doi: 10.1002/mnfr.201400231.
- Ronco, A., De Stefani, E., Mendoza, B., Vazquez, A., Abbona, E., Sanchez, G. & De Rosa, A. (2016). Mate and Tea Intake, Dietary Antioxidants and Risk of Breast Cancer: a Case-Control. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17, 2923-2933.
- Sahingil, D., Hayaloglu, A. A., Simsek, O. & Ozer, B. (2014). Changes in volatile composition, proteolysis and textural and sensory properties of white-brined cheese: effects of ripening temperature and adjunct culture. *Dairy Science & Technology*, 94(6), 603–623. Doi:10.1007/s13594-014-0185-2.
- Sánchez-González, L.; Pastor, C.; Vargas, M.; Chiralt, A.; González-Martínez, C. & Cháfer, M. (2011). Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. *Postharvest Biology and Technology*. 60, n. 1: 57-63.
- Santiago, P. G., Gasparotto, F. M., Gebara, K. S., Bacha, F. B., Lívero, F. A. dos R., Strapazon, M. A., Cardozo Junior, E. L., Kassuya, C. A. L., Souza, L. M. & Gasparotto Junior, A. (2017). Mechanisms underlying antiatherosclerotic properties of an enriched fraction obtained from *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. *Phytomedicine*, 34, 162–170. Doi:10.1016/j.phymed.2017.08.012.
- Santiago-López, L., Aguilar-Toalá, J. E., Hernández-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B., Liceaga, A. M. & González-Córdova, A. F. (2018). Invited review: Bioactive compounds produced during cheese ripening and health effects associated with

- aged cheese consumption. *Journal of Dairy Science*, 101(5), 3742–3757. Doi:10.3168/jds.2017-13465.
- Santos, K. A. (2004). Estabilidade da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) em embalagens plásticas. UFPR, 2004. 127 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- Saraiva, B. R., Vital, A. C. P., Anjo, F. A., Ribas, J. C. R. & Matumoto Pintro, P. T. (2019). Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) addition on the functional and technological characteristics of fresh cheese. *Journal of Food Science and Technology*. Doi:10.1007/s13197-019-03589-w.
- Smit, G., Smit, B. A. & Engels, W. J. M. (2005). Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews*, 29(3), 591–610. Doi:10.1016/j.fmrre.2005.04.002.
- Song Y, Liu L, Shen H, You J, & Luo Y. (2011) Effect of sodium alginate-based edible coating containing different anti-oxidants on quality and shelf life of refrigerated bream (*Megalobrama amblycephala*). *Food Control* 22:608–615. Doi: 10.1016/j.foodcont.2010.10.012.
- Terpou, A., Mantzourani, I., Galanis, A., Kanellaki, M., Bezirtzoglou, E., Bekatorou, A., Koutinas, A. A & Plessas, S. (2018). Employment of *L. paracasei* K5 as a Novel Potentially Probiotic Freeze-Dried Starter for Feta-Type Cheese Production. *Microorganisms*, 7(1), 3. Doi:10.3390/microorganisms7010003.
- Valdés, A., Ramos, M., Beltrán, A., Jiménez, A. & Garrigós, M. (2017). State of the Art of Antimicrobial Edible Coatings for Food Packaging Applications. *Coatings*, 7(4), 56. Doi:10.3390/coatings7040056.
- Van Mastrigt, O., Mager, E. E., Jamin, C., Abee, T. & Smid, E. J. (2018). Citrate, low pH and amino acid limitation induce citrate utilisation in *Lactococcus lactis* biovar diacetylactis. *Microbiology Biotechnology*. 11:369–80.
- Villarruel-Lopez, A., Castro-Rosas, J., Omez-Aldapa, C. A., Nuño, K., Torres-Vitela, M. R., Martinez-Gonzales, N. E. & Garay-Martinez, L. E. (2016). Indicator microorganisms, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcal* enterotoxin, and physicochemical parameters in requeson cheese. *African Journal of Food Science*, 10(9), 178-184.
- Vital, A. C. P., Goto, P. A., Hanai, L. N., Gomes-da-Costa, S. M., de Abreu Filho, B. A., Nakamura, C. V. & Matumoto-Pintro, P. T. (2015). Microbiological,

- functional and rheological properties of low fat yogurt supplemented with *Pleurotus ostreatus* aqueous extract. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 1028–1035. Doi:10.1016/j.lwt.2015.07.003.
- Vital, A. C. P., Guerrero, A., Monteschio, J. O., Valero, M. V., Carvalho, C. B., de Abreu Filho, B. A., Madrona, G. S. & do Prado, I. N. (2016). Effect of edible and active coating (with rosemary and oregano essential oils) on beef characteristics and consumer acceptability. *PLoS ONE* 11:e0160535. Doi:10.1371/journal.pone.0160535.
- Von Neubeck, M., Baur, C., Krewinkel, M., Stoeckel, M., Kranz, B., Stressler, T., Fischer, L., Hinrichs, J., Schere, S. & Wenning, M. (2015). Biodiversity of refrigerated raw milk microbiota and their enzymatic spoilage potential. *International Journal of Food Microbiology*, 211, 57–65. Doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.07.001.
- Yoon, Y., Lee, S. & Choi, K.-H. (2016). Microbial benefits and risks of raw milk cheese. *Food Control*, 63, 201–215. Doi:10.1016/j.foodcont.2015.11.013.
- Zhu, C. Z., Zhang, W. G., Kang, Z. L., Zhou, G. H. & Xu, X. L. (2014). Stability of an antioxidant peptide extracted from *Jinhua ham*. *Meat Science*, 96, 783–789.

III OBJETIVO GERAL

Avaliar as propriedades tecnológicas de queijo maturado elaborado a partir de leite cru e, adicionado de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01 com cobertura de erva-mate.

3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar os compostos bioativos da erva-mate e determinar o melhor tempo de aplicação na superfície dos queijos;

Elaborar queijos de leite cru adicionados de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01 como bactéria iniciadora;

Monitorar a maturação e analisar os queijos nos dias 1, 5, 10, 20, 40 e 60 com relação às características físico químicas e microbiológicas.

Efeito de cobertura ativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St.-Hil.) em queijo maturado feito com leite cru

(Modelo Revista LWT- Lebensmittel-Wissenschaft Technologie / Food Science Technology)

Resumo: Queijos maturados necessitam de tempo prolongado e técnicas diferenciadas para que possam atender aos parâmetros de qualidade ao final de sua produção. Dentre as diferentes técnicas, pode ser citada a adição de microrganismos benéficos (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01) capazes de inibir o crescimento de microrganismos patogênicos, e a adição de coberturas ativas, as quais podem interagir com o produto resultando em alterações nas suas propriedades tecnológicas. O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da adição de erva-mate como cobertura ativa em diferentes tempos de maturação, nas propriedades físico-químicas e microbiológicas de queijo maturado com adição de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01. O experimento foi desenvolvido durante 60 dias com quatro tratamentos, Tratamento 1: sem cobertura (TC); Tratamento 2: com cobertura aplicada no dia 5 (T5); Tratamento 3: com cobertura aplicada no dia 10 (T10) e Tratamento 4: com cobertura aplicada no dia 20 (T20). Concentração de compostos bioativos, atividade antioxidante, cor, dureza, acidez, pH e oxidação lipídica foram avaliados durante a maturação. A oxidação lipídica aumentou para os tratamentos de acordo com o dia de aplicação da erva e a umidade diminuiu, indicando também a ação do *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01 em ambiente restrito, pois no TC o aumento da oxidação se deu a partir do dia 40. Os coliformes totais foram detectados até o 5º dia de maturação do queijo. A presença da bactéria iniciadora auxiliou na inativação dos coliformes, que foram inexistentes a partir do dia 10, o *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01 se manteve em condições estáveis de atividade (10^7 UFC/g) aos 60 dias de maturação, apresentando os maiores valores para o T5 ($7,5 \times 10^7$ UFC/g). O melhor dia para aplicação da EM foi o dia 5 (T5), que apresentou maiores concentrações de polifenóis e menor dureza nas amostras.

Palavras-chave: Antioxidante; *Lactococcus lactis*; oxidação lipídica; textura

Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis* St.-Hil.) coating on ripened cheese made with raw milk

Abstract: Ripened cheeses need prolonged time and differentiated techniques so that they can meet the quality parameters at the end of their production. Among the different techniques, the addition of beneficial microorganisms (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01) capable of inhibiting the pathogens growth, and the addition of active coatings, which can interact with the product resulting in changes in its technological properties. The objective of this work was to verify the effect of adding yerba mate (YM) as an active covering at different ripening times on the physicochemical properties of cheese ripened with the addition of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01. The experiment was carried out for 60 days with four treatments, Treatment 1: without coverage (CT); Treatment 2: with coverage applied on day 5 (T5); Treatment 3: with coverage applied on day 10 (T10) and Treatment 4: with coverage applied on day 20 (T20). Concentration of bioactive compounds, antioxidant activity, color, hardness, lactic acid acidity, pH and lipid oxidation were evaluated during ripening. Lipid oxidation was increased for treatments according to the day of herb application and the humidity decreased, also indicating the action of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01 in a restricted environment, since in the CT the increase in oxidation occurred from day 40 onwards. Total coliforms were detected only until the 10th day of cheese maturation. The presence of the initiating bacteria helped inactivate the coliforms, which were non-existent from day 10, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01 remained in stable conditions of activity (10^{-7} CFU / g) at 60 days of maturation, presenting the highest values for the T5 (7.5×10^{-7} UFC / g). We concluded that the best day to apply MS was day 5 (T5), which had higher concentrations of polyphenols and less hardness in the samples.

Keywords: Antioxidant; *Lactococcus lactis*; lipid oxidation; texture

1. Introdução

O queijo é o produto originado da coagulação das proteínas do leite e pode ser fresco, semiduro, duro e maturado. Queijo maturado é um queijo que não está pronto para consumo logo após a fabricação e que passa por um período de conservação em condições que resultem nas alterações bioquímicas e físicas características de queijo maduro, originando um produto final com propriedades físicas, químicas e organolépticas definidas (Codex Alimentarius Commission, 1978; 2003; 2018).

Queijo é um alimento altamente nutritivo, que com a maturação ocorre um aumento na concentração de proteínas, gorduras saturadas, minerais como sódio, fósforo, cálcio e vitaminas A e B, permitindo desta forma, melhor detecção do estágio de maturação, através da concentração e identificação dos compostos (Abbas, Karoui, & Aït-Kaddour, 2012).

Produtos adicionados de compostos com maiores benefícios à saúde são valorizados pelos consumidores, por exemplo, os queijos com adição de compostos naturais e antioxidantes, que podem posteriormente, minimizar a ação de radicais livres na fisiologia celular, favorecendo o funcionamento do organismo em defesa contra doenças (Boaventura et al., 2012). O queijo elaborado a partir de leite cru tem objetivo principal de atingir aromas e sabores diferenciados dos queijos de leite pasteurizado, associados geralmente ao efeito de microrganismos da flora natural do leite, como *Lactococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp. e *Enterococcus* spp. (Masoud et al., 2012).

Atributos sensoriais de queijos elaborados com leite cru são constituídos, na maior parte por compostos voláteis, como ácidos, ésteres e álcoois que resultam da fermentação pela microbiota natural do leite, como bactérias microbianas autóctones, responsáveis por hidrolisar e metabolizar os nutrientes. A partir destas reações bioquímicas, desenvolve-se a maturação, reações que estão diretamente relacionadas aos diferentes sabores nos queijos. A microbiota influenciará na textura, dependendo da composição do leite, do processamento e das condições sazonais de fabricação dos queijos (Ocak, Javidipour, & Tuncturk, 2014; Gobbetti, Neviani & Fox, 2018).

A produção de substâncias indesejadas no interior dos queijos, pela presença de patógenos contaminantes, originados da fazenda, da industrialização ou pós-processamento pode ser controlada com a adição de bactérias que venham a produzir

compostos secundários e aumentar a taxa de acidificação, com objetivo de dificultar o crescimento de patógenos e/ou até inativá-los (Masoud et al., 2012).

Durante o período de armazenamento é comum a contaminação do queijo por bactérias, fungos e leveduras, podendo ocorrer o desenvolvimento de sabores indesejados, diminuindo a qualidade do queijo, principalmente quando armazenado sem embalagem. A alta perda de umidade pode ser um problema por aumentar a dureza e levar à propriedades organolépticas indesejadas. Diferentes sistemas de embalagens elaborados com materiais sintéticos colocam em dúvida a qualidade do produto, com isso, o uso de coberturas ativas vem surgindo como possibilidade promissora na prevenção de deterioração, na extensão da vida útil e na redução da perda de água (Cerqueira et al., 2010; Mastromatteo et al., 2014).

Filmes e coberturas ativas podem atuar como transportadores de agentes antimicrobianos e apresentar várias vantagens em relação às coberturas convencionais, como melhor espalhamento, permeabilidade e solubilidade. As coberturas ativas se destacam não apenas como barreira, mas também pelas suas propriedades antioxidantes e antibacterianas (Ramos et al., 2012; Arrieta, Peponi, López, & Fernández-García, 2018).

A erva-mate (EM) contém nutrientes, minerais e vitaminas solúveis em água, compostos fitoquímicos, particularmente polifenóis (ácidos fenólicos, flavonoides), alcaloides (metilxantinas, cafeína, teobromina, teofilina) e, terpenos (carotenoides, saponinas) (Heck & Mejia, 2007; Borré, et al., 2010). Os polifenóis da EM podem compreender até 10% do peso das folhas, com propriedades antioxidantes avaliadas *in vitro* pelos ensaios FRAP e ABTS comparáveis aos do vinho tinto ou chá. Os ácidos clorogênicos (hidroxicinatos) constituem os principais polifenóis da EM, representando até 95% do conteúdo fenólico e os outros 5% flavonóis (como a quercetina) (Bravo, Goya & Lecumberri, 2007).

Nos últimos vinte anos, ensaios clínicos exploram a possibilidade de usar a EM na prevenção ou como tratamento complementar de algumas doenças portanto, a adição de EM em produtos lácteos se apresenta como alternativa para inclusão de compostos ativos à dieta dos consumidores sem que os mesmos alterem seus hábitos alimentares. Os compostos bioativos da erva-mate têm potencial para aplicação na indústria de alimentos, pois são ricos em antioxidantes naturais e podem minimizar a deterioração durante a maturação (Riachi & Maria, 2017; Saraiva, et al., 2019).

Este trabalho teve como objetivo, elaborar queijo a partir de leite cru adicionado de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01, aplicar erva-mate como cobertura ativa em diferentes períodos da maturação e, avaliar as propriedades tecnológicas do produto durante 60 dias.

2. Materiais e métodos

2.1 Materiais

O leite cru foi adquirido em uma propriedade rural em Maringá, PR, Brasil (23°20'24.5"S 52°02'47.4"W). A EM foi adquirida de Giotti (General Carneiro, Paraná, Brasil). A enzima quimosina da (HA-LA[®]) (CHR Hansen, Danmark), e o *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01 da BV - Bela Vista. Foram utilizados meio de cultura M17 (Biosystems LTDA), glicose P.A., peptona (Kasvi LTDA), e *Violet Red Bile Agar* (Neogen – Lansing, Michigan). Reagentes Folin-Ciocalteu, ácido gálico, ácido 2,20-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolína6-sulfônico) (ABTS), 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), álcool metílico, ácido clorídrico, ácido tricloroacético, tampão fosfato, persulfato de potássio, carbonato de sódio, metanol e ácido acético foram adquiridos da Sigma Aldrich. Ferricianeto de potássio, cloreto de alumínio e cloreto férrico eram de grau analítico.

2.2 Compostos bioativos e atividade antioxidante

A extração dos compostos bioativos da EM e do queijo foram extraídos com metanol 100% (1:10, p/v). Homogeneizados por 10 min e centrifugados a 3000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi recuperado e utilizado nas análises de compostos bioativos (1:100, p/v) e atividade antioxidante segundo Adolfo Lutz (2008), com modificações.

2.3 Compostos fenólicos totais

Os compostos fenólicos totais (CFT) foram determinados de acordo com Singleton & Rossi (1965), com algumas modificações. O extrato (125 µL) foi homogeneizado com volume equivalente do reagente de Folin-Ciocalteu (diluído 1: 1 em água deionizada) e 2,25 mL de carbonato de sódio (28 g/L). A mistura foi incubada no escuro por 30 min e a absorbância medida a 725 nm usando um espectrofotômetro

(Evolution™ 300, Thermo Fisher Scientific, UK). Uma curva de absorvância padrão foi preparada usando 0-300 mg/L de ácido gálico e os resultados foram obtidos por interpolação nessa curva e expressos como mg de equivalente de ácido gálico (EAG)/g.

2.4 Flavonoides

Os flavonoides foram determinados de acordo com protocolo de Buriol (2009). O extrato (300 µL) foi adicionado de 150 µL de Cloreto de Alumínio (AlCl₃) e 2250 µL de metanol 100%. A mistura foi incubada no escuro por 30 min e a absorvância medida a 425 nm em espectrofotômetro. Uma curva de absorvância padrão foi preparada usando 0-300 µg/L de solução de quercetina e, os resultados foram obtidos por interpolação nessa curva e expressos como equivalente de quercetina (mgEQ/L).

2.5 Sequestro do radical livre ABTS

A atividade antioxidante pelo ensaio ABTS foi determinada de acordo com Re et al. (1999), com algumas modificações. O ABTS⁺ foi formado incubando ABTS (7 mM) com persulfato de potássio (140 mM) por 16 h em temperatura ambiente em condições escuras. O radical ativado ABTS foi diluído com etanol até atingir uma absorvância de $0,70 \pm 0,02$, em 1960 µL da solução resultante foram adicionados 40 µL de extrato. A absorvância a 734 nm foi medida após 6 min e a atividade de sequestro de radicais (%) foi calculada usando a Eq. 2:

$$\text{Atividade do radical ABTS (\%)} = \left(1 - \left(\frac{A_{\text{amostra}}}{A_{\text{amostra}=0}} \right) \right) \times 100 \quad (2)$$

Em que A_{amostra} = absorvância da amostra aos 6 min e

$A_{\text{amostra}=0}$ = absorvância da amostra no tempo zero.

2.6 Poder antioxidante de redução do ferro

O poder antioxidante de redução do ferro (FRAP) foi determinado de acordo com o protocolo publicado por Zhu et al. (2002). O extrato (250 µL) foi adicionado a 1,25 mL de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,0 e 1,25 mL de ferricianeto de potássio a 1%. A mistura foi incubada a 50°C por 20 min. Em seguida, 1,25 mL de ácido tricloroacético (10%) foram adicionados e a mistura foi centrifugada a 3000 rpm por 10 min. O sobrenadante (2,5 mL) foi misturado com 500 µL de cloreto férrico

(0,1%) e a absorvância a 700 nm foi lida imediatamente. Os resultados foram expressos em mg EAG/g, determinados usando a curva padrão de ácido gálico de 0 a 300 mg/L.

2.7 Elaboração dos queijos com leite cru e aplicação de cobertura

O leite utilizado na elaboração dos queijos foi ordenhado de animais após realização de *pré-dipping* e teste prévio de mastite subclínica com raquete (*California Mastitis Test - CMT*) e resultado negativo. O leite cru foi filtrado, aquecido a 38°C e *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01 foi adicionada (0,034 g/L) sob agitação por 2 minutos. O leite permaneceu em repouso por 30 min, e ao atingir 35°C a quimosina (0,01g/L) foi adicionada sob agitação (2 min). A coagulação foi realizada durante 1 hora e a massa foi cortada (cubos de 2 x 2 cm), permanecendo em repouso (30 min) para dessorar. A massa foi transferida para formas de queijo (80 mm de profundidade por 80 mm de diâmetro) e prensada (20 seg) com peso de 1 Kg (Perry, 2004) com modificações.

Os queijos foram armazenados em BOD com ambiente controlado, circulação de ar em temperatura de $8 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa média de 80%. Os queijos foram virados após 12 horas e desenformados após 24 horas, a salga a seco foi realizada posteriormente a 0,6% (p/p).

A EM foi padronizada em peneira de 60 mesh e, a parte fina foi utilizada para aplicação nas superfícies dos queijos com 5 (T5), 10 (T10) e 20 (T20) dias de maturação. Foram aplicadas manualmente 5g de EM seca, na superfície externa dos queijos, no tratamento controle (TC) não foi aplicada EM. Todos os tratamentos foram analisados com 1, 5, 10, 20, 40 e 60 dias de maturação.

2.8 Caracterização físico-química dos queijos de leite cru

As amostras foram liofilizadas (Christ Alpha 1-4 LD plus) para retirada total da umidade e melhor padronização do material e, analisadas quanto à umidade conforme Eq. 3 (925,09; AOAC, 2005), proteína bruta pelo método Kjeldahl, cinzas (923,03; AOAC, 2005) e gordura total (Bligh & Dyer, 1959). Os resultados foram expressos em base de matéria seca. Foi determinado o pH com pHmetro digital (TecnoPON/mPA 210) e a acidez titulável por ponto de viragem (pH 8,2) em titulação de NaOH (Lutz, 2008-463/IV).

2.9 Medidas e perda de umidade

A perda de umidade foi calculada usando a Eq. 3:

$$\text{Perda de umidade (\%)} = 100 - \left(\left(\frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso da amostra}} \right) \times 100 \right) \quad (3)$$

As medidas de diâmetro e espessura foram feitas pela média de dois pontos de cada amostra, na superfície e na borda dos queijos.

2.10 Análises Instrumentais

A cor interna dos queijos foi medida pelo sistema CIELAB, utilizando um colorímetro (Chroma Meter CR-400; Minolta, Mahwah, Nova Jersey, EUA), com o iluminante padrão D65. Foram feitas leituras diretas dos parâmetros L* (100= branco; 0 = preto), a* (+, vermelho; -, verde) e b* (+, amarelo; -, azul) em 3 pontos distintos do interior das amostras.

A análise de dureza foi realizada no centro do queijo (diâmetro de 7,0 cm e altura 1,2 cm) utilizando um texturômetro CT3 (Texture Analyser – Brookfield). Uma probe circular de acrílico foi utilizada (diâmetro de 38,1 mm e altura de 20 mm) com força de 50 Kg, velocidade de 1 mm/s e distância de compressão de 5,0 mm. Foi avaliado o parâmetro de dureza nos ciclos 1 e 2 de acordo com Saraiva et al. (2019) com modificações. Não foi possível realizar o teste de compressão após o dia 20, pois os queijos apresentaram dureza que causou sobrecarga no equipamento.

2.11 Determinação da oxidação lipídica

A análise de oxidação lipídica foi realizada através da determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Kiokias, Dimakou, & Oreopoulou, 2007). A extração foi realizada com solução de ácido tricloroacético (TCA – 10%) e ácido gálico (10:5 v/p amostra triturada), a mistura foi homogeneizada em turrax (15 seg), centrifugada por 15 min (4°C) a 4000 rpm e filtrada em papel filtro qualitativo (80 g/m²). O extrato foi adicionado à solução de ácido tiobarbitúrico (TBA) (1:1, v/v), a mistura foi aquecida (100°C) por 15 min, resfriada e centrifugada a 3000 rpm (10 min). A absorbância do sobrenadante foi medida 532 nm e comparada com

uma curva padrão de malonaldeído (1,3,3-tetrametoxipropano), variando de 0 a 60 $\mu\text{M/L}$.

2.12 Análises microbiológicas

A presença ou ausência de *Salmonella spp.* a 41,5°C foi determinada utilizando 3M Petrifilm™ (St. Paul, MN 55144, USA) de acordo com as informações do fabricante nos queijos com 1 e 60 dias de maturação. A contagem de Coliformes totais e *Staphylococcus aureus* foi realizada com meio de cultura *Violet Red Bile Agar* em placas de petri incubadas a 35°C por 48 h. O *Lactococcus lactis ssp. lactis* FX-01 foi analisado com meio de cultura M17 com suplementação de glicose (5g/L) (Ruggirello, Dolci & Cocolin, 2014), 37°C por 48h, nas diluições 10^{-4} até 10^{-8} para cada dia de análise, até a maturação com 60 dias.

2.13 Análise estatística

Foi utilizado um delineamento inteiramente ao acaso, em fatorial, com quatro tratamentos e 6 períodos, constituído de dois fatores fixos (aplicação da cobertura (Tratamento) e tempo de maturação (Dias)), com o objetivo de comparar estimativas de variâncias dentro de cada período de análise e, a análise de regressão polinomial para estudar o comportamento de cada tratamento de estudo no decorrer do período de maturação. O experimento foi realizado 3 vezes com 4 repetições por tratamento. Análise de variância foi realizada utilizando o modelo linear geral (GLM) com SPSS (v.15.0) (IBM SPSS Statistics, SPSS Inc., Chicago, EUA) para Windows. Médias e desvio padrão foram calculados para cada variável. Quando as diferenças foram estatisticamente significativas, teste de Tukey foi realizado com significância estatística de $p < 0,05$.

3. Resultados e discussão

3.1 Propriedades físico-químicas do queijo com cobertura

Na tabela 2, pode-se observar que ao final da maturação, os queijos apresentaram média de 16,52% de gordura, para os valores de cinzas e proteína bruta, as médias foram 5,12% e 38,79%, respectivamente. Pode ser um queijo comparado ao

queijo italiano Parmigiano Reggiano, que maturado aos 12 meses apresenta características semelhantes de gordura e proteína. As propriedades físico-químicas incluem o teor de proteínas, teor de sal, conteúdo de água, pH, o teor de gordura, tendo como principal influência a interação dos componentes individuais, especialmente a gordura, proteína e umidade (Fox et al., 2004; Sberveglieri, Bhandari, Pulvirenti, & Carmona, 2016).

Verifica-se com a tabela 3, que inicialmente o queijo apresentou 63,51% de umidade, reduzindo esse valor para 14,21% ao final dos 60 dias de maturação. O T5, com cobertura aplicada no dia 5, apresentou na comparação entre tratamentos, a maior concentração de umidade 46,04%. A maturação em ambiente controlado (85 - 90% UR), e o pequeno tamanho das amostras, associado ao sistema de ventilação e refrigeração acelera a redução da umidade dos queijos, resultado que pode ter sido diminuído com a aplicação de cobertura ativa no T5 no 5º dia de armazenamento (Tolentino, 2013).

Na interação entre dias e tratamentos (Tabela 3), verifica-se que o tratamento T5, no 10º dia de maturação, apresentou menor perda de umidade (5,26%), comparado com os demais (19,7%), apresentando 14,43% de umidade ao final da maturação (60d). A cobertura aplicada em queijos pode exercer função de barreira à passagem de água e consequente menor desidratação (Tolentino, 2013).

Na tabela 3, em relação ao pH, observa-se a média para comparação entre tratamentos, que houve diferença entre T5 e T20, que receberam aplicação de EM, com pH 5,29 e 5,17, respectivamente e, o TC apresentou o menor valor (5,04). No dia 60 foi observado o menor valor de pH para todos os tratamentos (4,46), não apresentando interação entre tratamentos e dias de maturação.

A estabilização do pH pode ser explicada adição da camada de EM, que ocorre brevemente até iniciar a ação da bactéria iniciadora adicionada na elaboração do queijo, permitindo que o pH volte a baixar, o que não ocorre no TC que não recebeu EM, por isso apresentou o menor valor. A adição de bactérias mesofílicas como o *Lactococcus lactis* em queijos é bastante utilizada para a diminuição do pH, possui função primária de “*starter*”, com produção de ácido para a fabricação da maioria dos queijos, além de outras funções relacionadas com a diminuição do potencial redox que passa de +250 mV no leite, para -150 mV no queijo. O pH da massa cai para próximo de 5,0 em um espaço de tempo entre 5 e 20 horas, dependendo da variedade do queijo a ser fabricado.

Essa modificação é essencial para o desenvolvimento bioquímico da maturação de um queijo. (Fox & Mcsweeney, 1998).

A acidez, na tabela 3, expressa valores baixos no início da maturação, ocasionados pelo efeito do pH baixo, e crescentes de acordo com o consumo da lactose residual até o 20º dia de maturação, estabilizando nos próximos dias. Para os tratamentos, T5 (EM aplicada dia 5) apresentou o menor valor e o TC o maior valor de acidez, 0,58% e 0,67%, respectivamente. Este resultado expressa a influência de aplicação de EM como cobertura, pois a produção de ácido desempenha vários papéis na fabricação de queijos tais como: controla e previne o crescimento de bactérias deterioradoras e patogênicas; retenção e atividade do coagulante e também a atividade de enzimas durante a maturação, portanto, em meio com maior quantidade de umidade ocorre maior atividade enzimática. A acidificação é proporcionada pela fermentação da lactose em ácido lático pelas bactérias lácticas adicionadas ao leite (Fox & Mcsweeney, 1998; Tarakci, Temiz, Aykut, & Turhan, 2011).

Na interação (Tabela 3) excluindo-se o 1º e o 5º dia, em que todos apresentavam a mesma acidez inicial, no 10º dia, o T5 obteve o menor valor (0,56%), e pode expressar a intensificação das reações de protease, lipase, ações da bactéria de cultura inicial e suas enzimas e, da microflora secundária, seguida da estabilidade característica de queijo maturado (Fox, Guinee, Cogan & McSweeney, 2017).

Na tabela 3, o T5 apresenta entre os tratamentos a menor dureza, 11,43Kg. Na interação, a textura expressa valores de dureza variáveis de acordo com o dia de aplicação da erva, sem olhaduras e com maior porcentagem de umidade (34,24%), o T5 apresentou menor valor de dureza 19,30Kg. A umidade na matriz do queijo atua como um plastificante entre os filamentos de proteínas, orientando e regulando a estrutura das redes dentro da matriz, tornando o queijo mais macio e flexível. a produção de ácido solubiliza fosfato de cálcio afetando, portanto, a textura do queijo, promove sinérese e consequentemente influencia a composição do queijo (Lamichhane, Kelly & Sheehan, 2018).

O maior valor de dureza foi apresentado pelo TC no dia 20: 59,59Kg, não recebeu a cobertura de EM e teve maior perda de umidade (Tolentino, 2013). Reação que pode ser explicada observando a diferença no pH dos queijos com EM e controle (sem EM), alterações químicas na rede de proteínas da coalhada do queijo estão diretamente relacionados ao pH, à acidez e à textura final, a rigidez geralmente diminui

à medida que o pH aumenta e a acidez diminui (Fox, Guinee, Cogan, & McSweeney, 2000).

A textura e o pH são considerados fatores qualitativos para queijos elaborados com leite cru, a microflora metaboliza lactose, lactato e citrato residuais nos queijos, além de ácidos graxos e aminoácidos, favorecendo a desidratação e a compactação durante todo o período de maturação (Fox, Guinee, Cogan, & McSweeney, 2000; O'Callaghan et al., 2017).

A coloração (Tabela 4) é um atributo importante na escolha do produto pelo consumidor, que relaciona essa característica à qualidade do mesmo (Dufossé et al., 2005). Os resultados de cor entre os tratamentos apresentaram alterações significativas para os parâmetros L^* e a^* do T5 e T10 após a aplicação da EM, em comparação ao TC e T20, que podem ser explicadas pelas reações da maturação que ocorrem nos queijos durante o armazenamento e, pela absorção dos compostos da EM. Ao adicionar pigmentos naturais em alimentos, por serem compostos instáveis, eles podem participar de diferentes reações de oxidação, alterações enzimáticas e químicas que podem alterar a cor do produto durante o período de maturação (O'Callaghan, et al., 2017).

Na interação entre dias e tratamentos (Tabela 4), observou-se que a aplicação da EM no queijo pode ocasionar a migração dos compostos e pigmentos da cobertura, relacionados com a coloração para o interior dos queijos (Fajardo, et al., 2010), e pode explicar o aumento do parâmetro - a^* (verde) para o T5 no dia 10, diferindo-o estatisticamente dos demais tratamentos.

O parâmetro b^* (amarelo) é um indicativo importante, pois pode indicar o ponto de maturação do queijo no dia 60 (Tabela 4), observou-se que o maior aumento de b^* (de 13,07 para 33,43) conforme diminuiu o L^* (branco) (de 90,86 para 78,75) ocorreu no T5, podendo estar relacionado com a liberação dos compostos do mate para o interior dos queijos, e também ocorre mudança de branco para amarelo (dourado) em queijos maturados, e pode expressar a antecipação da maturação do T5, através da intensificação das reações no 10º dia de maturação (b^* : 25,14) (Coşkun & Tunçtürk, 2000; Fox, Guinee, Cogan, & McSweeney, 2000).

3.2 Características do queijo com cobertura

3.2.1 Compostos bioativos e atividade antioxidante

Na atividade antioxidante da EM, FRAP e ABTS apresentaram 18,04 mg de EAG/g e 61,96% para o sequestro do radical livre ABTS, respectivamente. Em relação aos compostos bioativos da EM, os compostos fenólicos totais (CFT) apresentaram 21,15 mg de EAG/g, a atividade antioxidante da EM se deve principalmente a seus compostos fenólicos (Riachi & Maria, 2017) e, os flavonoides apresentaram atividade de 6,56 mg de EQ/g (dados não apresentados em tabela).

Na Tabela 5, o T5 apresentou maior teor de CFT que os demais tratamentos (9,90 mg de EAG/g), para os dias, o teor de CFT aumentou durante os últimos 40 dias (13,67 mg de EAG/g dia 60), podendo ser explicado pela ação antioxidante da EM nos compostos do queijo, pelo período de maturação e consequente aumento da síntese de ácidos graxos pelo *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01, que em ambiente restrito passa a sintetizar ácidos graxos a partir de aminoácidos (Ganesan, Dobrowolski, & Weimer, 2006), e teria potencializado a ação antioxidante da EM a partir do 20º dia de maturação.

O T5 (com a EM aplicada no dia 5) obteve os melhores valores entre os tratamentos para todos os parâmetros antioxidantes, sendo para FRAP: 0,76 mg EAG/g e ABTS: 12,11%. A porcentagem de ABTS para os dias foi 10,29% no dia 60. Reações que podem ser explicadas pela aplicação da EM que no T5, permitiu maior retenção de umidade no início do armazenamento, intensificando as reações no microambiente interno do queijo acelerando o processo de maturação (Fox, Guinee, Cogan, & McSweeney, 2000).

3.2.2 Oxidação lipídica

Na Tabela 6, as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foram quantificadas pela concentração de malonaldeído, que aumentou durante a maturação dos queijos. Na interação o T5 passou de 0,20 mg/Kg (dia 01) para 1,01 mg/Kg (dia 60), diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Resultado que pode estar associado com a retenção da umidade, permitindo que o ambiente interno se torne mais favorável, intensificando as reações bioquímicas de maturação em queijos (Fox, Guinee, Cogan & McSweeney, 2000).

A capacidade do *L. lactis* de sintetizar ácidos graxos em ambiente nutricional restrito, através da rota metabólica lipídica das bactérias Gram-positivas, pode ser verificada na Tabela 6, pelo aumento da concentração de malonaldeído em todos os

tratamentos no dia 60. E, também pode ser observado na Tabela 2, no dia 60, com os maiores valores de sequestro de radicais livres pelo ABTS e CFT, com a finalidade de minimizar os efeitos oxidativos dos ácidos graxos produzidos pelo *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01 (Ganesan, Dobrowolski, & Weimer, 2006).

3.3 Análises microbiológicas

Coliformes e *S. aureus* foram encontrados até o 5º dia de análises, na concentração 10^{-2} UFC/mL, e é um limite tolerável pela legislação (AOAC, 2012; EFSA, 2015). A análise de *Salmonella* spp apresentou resultado ausente para todas as formulações no 1º e 60º dia de análises.

A bactéria *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01, adicionada na elaboração dos queijos, apresentou nível constante, com formação de colônias durante os 60 dias de maturação (Ganesan, Dobrowolski & Weimer, 2006). Os valores médios encontrados no dia 60 maturação, na diluição 10^{-6} UFC/g foram para TC: $7,78 \times 10^{-7}$; T5: $13,18 \times 10^{-7}$; T10: $8,68 \times 10^{-7}$ e T20: $8,10 \times 10^{-7}$, sendo que o T5 diferiu estatisticamente dos demais com maior contagem de colônias em todos os dias de análise, sendo que o *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01 por exercer função competidora com os microrganismos patogênicos, impediu o desenvolvimento de outros microrganismos.

O *L. lactis* ssp. *lactis* FX-01 esteve presente em todos os tratamentos até os 60 dias de maturação com contagem mínima de $7,5 \times 10^{-7}$ UFC/g. A presença de microrganismos benéficos na fase de maturação do queijo e, em quantidades que sejam capazes de ser absorvidas pelo trato gastrointestinal ao ser consumido, confere benefícios à saúde de quem os consome (FAO/OMS, 2001). São considerados probióticos pela literatura, alimentos com populações de 10^{-6} a 10^{-7} UFC/g (Brasil, 2005; FAO/WHO, 2016).

4. Conclusões

O queijo elaborado com leite cru, adicionado de *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01, e aplicação de EM como cobertura ativa, apresentou condições de consumo a partir de 10 dias de maturação, por não apresentar contagem de coliformes totais. O dia com melhores qualidades tecnológicas para aplicação da EM foi o dia 5 de maturação (T5), que apresentou maiores concentrações de polifenóis e textura mais macia dos

queijos. O *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* FX-01 permitiu controle dos microrganismos patogênicos nos queijos e se manteve em condições estáveis de atividade (10^{-7} UFC/g) até os 60 dias de maturação. Com isso, aplicar coberturas ativas no início do processo de maturação, de queijos elaborados a partir de leite cru, torna o produto seguro e viável por mais tempo.

Referências

- Abbas, K., Karoui, R. & Aït-Kaddour, A. (2012). Application of synchronous fluorescence spectroscopy for the determination of some chemical parameters in PDO French blue cheeses. *European Food Research and Technology*, 234(3), 457–465. Doi:10.1007/s00217-011-1652-0.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (2005). *Official Methods of Analysis*. 18th ed. Gaithersburg, Maryland 20877-2417, EUA.
- AOAC. Association of Official Analytical Chemists International (2012). *Official methods of analysis* (19th ed.). Gaithersburg, MA, USA.
- Arrieta, M. P., Peponi, L., López, D. & Fernández-García, M. (2018). Recovery of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) residue for the development of PLA-based bionanocomposite films. *Industrial Crops and Products*, 111, 317–328. Doi:10.1016/j.indcrop.2017.10.042.
- Bligh, E. G. & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917. Doi:10.1139/o59-099.
- Boaventura, B. C. B., Di Pietro, P. F., Stefanuto, A., Klein, G. A., de Moraes, E. C., de Andrade, F., Wazlawik, E. & da Silva, E. L. (2012). Association of mate tea (*Ilex paraguariensis*) intake and dietary intervention and effects on oxidative stress biomarkers of dyslipidemic subjects. *Nutrition*, 28(6), 657–664. Doi:10.1016/j.nut.2011.10.017.
- Borré, G. L., Kaiser, S., Pavei, C., Da Silva, F. A., Bassani, V. L. & Ortega, G. G. (2010). Comparison of methylxanthine, phenolics and saponin contents in leaves, branches and unripe fruits from *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 33: 1–13. Doi: 10.1080/10826070903526055.

- Brasil. (2005). Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 278/2005. Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos IX - Lista de alegações de propriedade funcional aprovadas. Anexo II. Atualizado em julho/2008.
- Bravo, L., Goya, L. & Lecumberri, E. (2007). LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Research International*, 40(3), 393–405. Doi:10.1016/j.foodres.2006.10.016.
- Buriol, L., Finger, D., Schmidt, E. M., Santos, J. M. T. dos, Rosa, M. R. da, Quináia, S. P., ... Eberlin, M. N. (2009). Composição química e atividade biológica de extrato oleoso de própolis: uma alternativa ao extrato etanólico. *Química Nova*, 32(2), 296–302. Doi:10.1590/s0100-40422009000200006.
- Codex Alimentarius Commission. (1978). Codex general standard for cheese. CODEX STANDARD 283-1978. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization, Rome/Geneva. Available at: <http://www.codexalimentarius.org>. Accessed in: 05 Jan 2020.
- Codex Alimentarius Commission. (2003). Codex standard for fermented milks. CODEX STANDARD 243-2003, adopted in 2003. Revised in 2008, 2010, 2018. Available at: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius.org>. Accessed in: 21 Nov 2019.
- Codex Alimentarius Commission. (2014). Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Assessment. CAC/GL 30-1999. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization, Rome/Geneva. Available at: <http://www.codexalimentarius.org>. Accessed in: 21 Nov 2019.
- Cerqueira, M. A., Sousa-Gallagher, M. J., Macedo, I., Rodriguez-Aguilera, R., Souza, B. W. S., Teixeira, J. A. & Vicente, A. A., (2010). Use of galactomannan edible coating application and storage temperature for prolonging shelf-life of “Regional” cheese. *Journal of Food Engineering*, 97 (1), 87–94.
- Coşkun, H. & Tunçtürk, Y. (2000). The effect of *Allium sp.* on the extension of lipolysis and proteolysis in Van herby cheese during maturation. *Nahrung*, 44, 52–55. Doi:10.1002/(sici)1521-3803(20000101)44:1<52::aid-food52>3.0.co;2-b.
- Dufossé, L., Galaup, P., Carlet, E., Flamin, C. & Valla, A. (2005). Spectrocolorimetry in the CIE L*a*b* color space as useful tool for monitoring the ripening process

- and the quality of PDO red-smear soft cheeses. *Food Research International*, 38(8-9), 919–924. Doi: 10.1016/j.foodres.2005.02.013.
- EFSA. ECDC. (2015). SCIENTIFIC REPORT OF EFSA AND ECDC: The European Union 436 summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 437 2013. *EFSA Journal* 2015. 13(1). 3991.
- Fajardo, P., Martins, J. T., Fuciños, C., Pastrana, L., Teixeira, J. A. & Vicente, A. A. (2010). Evaluation of a chitosan-based edible film as carrier of natamycin to improve the storability of Saloio cheese. *Journal of Food Engineering*, 101(4), 349–356. Doi:10.1016/j.jfoodeng.2010.06.029.
- FAO/WHO. (2001). Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (Food and Agriculture Organization for United Nations)/Organização Mundial de Saúde (World Health Organization), 2001. Human energy requirements. Report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. Rome: *Food and Agriculture Organization*.
- FAO/WHO. (2016). Codex Alimentarius Commission. Procedural manual, 25th ed. Rome.
- FDA, Food and Drug Administration. (2018). *Code of Federal Regulations*, 21 of code federal regulation: Vol. 184. Washington DC: Department of Health and Human Services.
- Fox, P. F. & Mcsweeney, P. L. H. (1998) *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Blackie Academic Professional, London, 1998, 478p.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. & McSweeney, P. L. H. (2000). “Biochemistry of cheese ripening,” in *Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publication, Gaithersburg, MD., 2000, pp. 236- 278.
- Fox, P. F., Mcsweeney, P. L. H., Cogan, T. M. & Guinee, T. P. (2004) Eds. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology: General Aspects*. Vol. 1. Academic Press, 2004.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. & McSweeney, P. L. H. (2017). Fundamentals of cheese science. *Science and Technology*. Doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004.
- Ganesan, B., Dobrowolski, P. & Weimer, B. C. (2006). Identification of the Leucine-to-2-Methylbutyric Acid Catabolic Pathway of *Lactococcus lactis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(6), 4264–4273. Doi:10.1128/aem.00448-06.

- Gobbetti, M., Neviani, E. & Fox, P. F. (2018). The main characteristics of the Italian cheeses. *Cheeses of Italy: Science and Technology*. Vol. 1. 1st ed., 61–88. Springer.
- Heck, C. I. & Mejia, E. G. (2007). Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications and technological considerations. *Journal of Food Science*. 72: 138–151.
- Kiokias, S., Dimakou, C. & Oreopoulou, V. (2007). Effect of heat treatment and droplet size on the oxidative stability of whey protein emulsions. *Food Chemistry*, v. 105, n. 1: 94-100.
- Lamichhane, P., Kelly, A. L., & Sheehan, J. J. (2018). Effect of milk centrifugation and incorporation of high-heat-treated centrifugate on the composition, texture, and ripening characteristics of Maasdam cheese. *Journal of Dairy Science*, 101(7), 5724–5737. Doi:10.3168/jds.2017-14178.
- Lutz, A. (2008). Instituto Adolfo Lutz. *Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos físico-químicos para análise de alimentos*, 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.
- Masoud, W., Vogensen, F. K., Lillevang, S., Abu Al-Soud, W., Sorensen, S. J. & Jakobsen, M. (2012). The fate of indigenous microbiota, starter cultures, *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus* in Danish raw milk and cheeses determined by pyrosequencing and quantitative real time (qRT)-PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 153(1-2), 192–202. Doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.11.014.
- Mastromatteo, M., Conte, A., Faccia, M., Del Nobile, M. A. & Zambrini, A. V. (2014). Combined effect of active coating and modified atmosphere packaging on prolonging the shelf life of low-moisture Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 36–45. Doi:10.3168/jds.2013-6999.
- O’Callaghan, F. T., Mannion, D. T., Hennessy, D., McAuliffe, S., O’Sullivan, M. G., Leeuwendaal, N., Beresford, T. P., Dillon, P., Kilcawley, K. N. & Sheehan, J. J. et al. (2017). Effect of Pasture Versus Indoor Feeding Systems on Quality Characteristics, Nutritional Composition, and Sensory and Volatile Properties of Full-Fat Cheddar Cheese. *Journal Dairy Science*, 100, 6053–6073.
- Ocak, E., Javidipour, I. & Tuncturk, Y. (2014). Volatile compounds of Van Herby cheeses produced with raw and pasteurized milks from different species. *Journal*

- of Food Science and Technology*, 52, 4315-4323. Doi:10.1007/s13197-014-1458-8.
- Perry, K. S. P. (2004). Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos *Química Nova*, Belo Horizonte, MG. Vol. 27, No. 2, 293-300.
- Ramos, Ó. L., Pereira, J. O., Silva, S. I., Fernandes, J. C., Franco, M. I., Lopes-da-Silva, J. A., Pintado M. E. & Malcata, F. X. (2012). Evaluation of antimicrobial edible coatings from a whey protein isolate base to improve the shelf life of cheese. *Journal of Dairy Science*, 95(11), 6282–6292. Doi:10.3168/jds.2012-5478.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology Medical*, 26:1231–1237. Doi:10.1016/S0891-5849(98)00315-3.
- Riachi, L. G. & Maria, C. A. B. (2017). Yerba mate: an overview of physiological effects in humans. *Journal of Functional Foods*, 38:308–320. Doi: 10.1016/j.jff.2017.09.020.
- Ruggirello, M., Dolci, P. & Cocolin, L. (2014). Detection and Viability of *Lactococcus lactis* throughout Cheese Ripening. *PLoS ONE*, 9(12), e114280. Doi:10.1371/journal.pone.0114280.
- Saraiva, B. R., Vital, A. C. P., Anjo, F. A., Ribas, J. C. R. & Matumoto Pinto, P. T. (2019). Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) addition on the functional and technological characteristics of fresh cheese. *Journal of Food Science and Technology*. Doi:10.1007/s13197-019-03589-w.
- Sberveglieri, V., Bhandari, M. P., Pulvirenti, A. & Carmona, E. N. (2016). Grated Parmigiano Reggiano Cheese: Authenticity Determination and Characterization by a Novel Nanowire Device (S3) and GC-MS. *Smart Sensors, Measurement and Instrumentation*, 229–243. Doi:10.1007/978-3-319-47322-2_11.
- Singleton, V. L. & Rossi, J. A. Jr. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology Viticulture*, 16: 144-158.
- Tarakci, Z., Temiz, H., Aykut, U. & Turhan, S. (2011). Influence of wild garlic on color, free fatty acids, and chemical and sensory properties of herby pickled cheese. *International Journal of Food Properties*, v. 14, 287–299. Doi: 10.1080/10942910903176576.

- Tolentino, M. C. (2013). Desenvolvimento e caracterização de queijo de massa semidura recoberto com alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). Tese (doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. Curitiba, 22/03/2013.
- Zhu, Q. Y., Hackman, R. M., Ensunsa, J. L., Holt, R. R. & Keen, C. L. (2002) Antioxidative activities of Oolong tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:6929–6934. Doi: 10.1021/jf0206163.

Tabela 2: Composição de queijos de leite cru com cobertura de erva-mate (EM) durante 60 dias de maturação a 8°C.

	Maturação (dias)	
	01	60
Gordura (%)		
TC	7,06±2,46	18,30±1,30
T5	7,06±2,46	14,22±3,03
T10	7,06±2,46	20,43±0,69
T20	7,06±2,46	13,16±0,90
Cinzas (%)		
TC	5,19±0,00	5,12±0,02
T5	5,19±0,00	5,31±0,18
T10	5,19±0,00	4,93±0,11
T20	5,19±0,00	5,14±0,14
Proteína (%)		
TC	37,45±0,32	39,70±0,72
T5	37,45±0,32	38,06±0,54
T10	37,45±0,32	39,69±0,79
T20	37,45±0,32	37,72±2,54

TC: controle, sem cobertura de EM; T5: cobertura de EM aplicada no dia 05; T10: cobertura de EM aplicada no dia 10; T20: cobertura de EM aplicada no dia 20. Resultados expressos em média ± desvio padrão.

Tabela 3: Propriedades físico-químicas de queijos de leite cru com cobertura de erva-mate (EM) durante 60 dias de maturação a 8°C.

	Tratamentos		Maturação (dias)								Pt	Pd	Pt x Pd
	TC	T5	T10	T20	01	05	10	20	40	60			
pH	5,04 ^C	5,29 ^A	5,21 ^{AB}	5,17 ^B	5,63 ^a	5,18 ^c	5,21 ^c	4,98 ^a	5,37 ^b	4,46 ^c	<0,001	<0,001	0,447
Acidez	0,67 ^A	0,58 ^C	0,65 ^{AB}	0,61 ^{BC}	0,24 ^c	0,70 ^{ab}	0,73 ^{ab}	0,77 ^a	0,67 ^b	0,66 ^b	<0,001	<0,001	<0,001
Altura (mm)	19,08 ^C	22,81 ^A	20,59 ^B	19,74 ^{BC}	24,98 ^a	18,84 ^c	21,07 ^b	19,56 ^{bc}	19,59 ^{bc}	19,26 ^b	<0,001	<0,001	<0,001
Diâmetro (mm)	71,60 ^B	71,55 ^B	73,20 ^A	72,00 ^B	74,69 ^b	79,94 ^a	74,67 ^b	70,07 ^c	67,59 ^c	65,95 ^d	<0,001	<0,001	<0,001
Umidade (g)	44,62 ^B	46,04 ^A	44,87 ^B	44,84 ^B	63,51 ^a	54,88 ^b	37,71 ^c	32,58 ^d	17,64 ^e	14,21 ^f	<0,001	<0,001	<0,001
Dureza (Kg)	16,21 ^B	11,43 ^B	31,49 ^A	...	0,83 ^b	1,08 ^b	3,46 ^b	36,79 ^a			<0,001	<0,001	<0,001
	Interação				01	05	10	20	40	60	P-Valor		
Acidez (%)	TC				0,24±0,06 ^{bA}	0,70±0,04 ^{aA}	0,80±0,07 ^{aA}	0,83±0,08 ^{aA}	0,78±0,07 ^{aA}	0,67±0,07 ^{a AB}	<0,001		
	T5				0,24±0,06 ^{cA}	0,70±0,04 ^{abA}	0,56±0,020 ^{bB}	0,75±0,08 ^{aA}	0,58±0,06 ^{abA}	0,62±0,02 ^{abB}	<0,001		
	T10				0,24±0,06 ^{cA}	0,70±0,04 ^{abA}	0,80±0,07 ^{aA}	0,75±0,02 ^{abA}	0,64±0,03 ^{bA}	0,79±0,06 ^{aA}	<0,001		
	T20				0,24±0,06 ^{cA}	0,70±0,04 ^{abA}	0,80±0,07 ^{aA}	0,83±0,08 ^{aA}	0,67±0,07 ^{abA}	0,55±0,04 ^{aB}	<0,001		
	P-Valor				1,000	1,000	<0,001	0,251	0,101	0,003			
Umidade (%)	TC				63,51±0,71 ^{aA}	54,88±0,6 ^{bA}	35,18±1,5 ^{cB}	28,75±0,6 ^{dB}	15,51±0,03 ^{cC}	12,80±0,03 ^{cC}	<0,001		
	T5				63,51±0,71 ^{aA}	54,88±0,6 ^{bA}	45,28±0,89 ^{cA}	34,24±1,27 ^{dA}	19,24±0,0 ^{eA}	14,43±0,15 ^{fB}	<0,001		
	T10				63,51±0,71 ^{aA}	54,88±0,6 ^{bA}	35,18±1,5 ^{cB}	34,74±1,55 ^{cA}	19,33±0,11 ^{dA}	15,58±0,19 ^{eA}	<0,001		
	T20				63,51±0,71 ^{aA}	54,88±0,6 ^{bA}	35,18±1,5 ^{cB}	28,75±0,6 ^{dB}	16,49±0,01 ^{eB}	14,04±0,02 ^{eB}	<0,001		
	P-Valor				1,000	1,000	<0,001	0,002	<0,001	<0,001			
Dureza (Kg)	TC				0,83±0,10 ^{cA}	1,08±0,03 ^{cA}	3,37±0,63 ^{bA}	59,59±0,80 ^{aA}			<0,001		
	T5				0,83±0,10 ^{bA}	1,08±0,03 ^{bA}	3,55±0,20 ^{bA}	19,30±0,74 ^{aB}			0,001		
	T10				0,83±0,10 ^{bA}	1,08±0,03 ^{bA}	3,37±0,63 ^{bA}	31,49±0,68 ^{aB}			<0,001		
	P-Valor				1,000	1,000	1,000	<0,001					

TC: controle, sem cobertura de EM; T5: cobertura de EM aplicada no dia 05; T10: cobertura de EM aplicada no dia 10; T20: cobertura de EM aplicada no dia 20. Pt: efeito do tratamento; Pd: efeito dos dias; Pt x Pd: interação entre os tratamentos e os dias de maturação. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa (p<0,05) entre o efeito de tratamentos. Letras minúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa (p<0,05) entre o efeito de dias. Na interação, letras maiúsculas diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa (p<0,05) entre os tratamentos e, letras minúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa (p<0,05) entre os dias.

Tabela 4: Coloração interna de queijos de leite cru com cobertura de erva-mate (EM), durante 60 dias de maturação (8°C).

Tratamentos	Maturação (dias)										Pt	Pd	Pt x Pd
	TC	T5	T10	T20	01	05	10	20	40	60			
L*	81,15 ^B	84,71 ^A	84,21 ^A	81,58 ^B	90,86 ^a	89,52 ^a	89,30 ^a	89,01 ^a	75,15 ^b	73,23 ^b	0,004	<0,001	<0,001
a*	-5,25 ^B	-5,06 ^A	-5,10 ^A	-5,31 ^B	-3,39 ^a	-3,85 ^b	-4,29 ^c	-4,91 ^d	-6,08 ^e	-6,80 ^f	<0,001	<0,001	<0,001
b*	24,74 ^A	24,36 ^{aB}	23,58 ^B	23,66 ^{AB}	13,07 ^f	16,44 ^c	22,00 ^d	24,63 ^c	26,66 ^b	32,00 ^a	<0,001	<0,001	<0,001
Interação da cor interna													
Maturação (dias)		01	05	10	20	40	60	Pt					
L*	TC	90,86±0,38 ^{aA}	89,52±0,32 ^{aA}	89,52±0,87 ^{aA}	87,05±1,13 ^{aB}	74,06±5,33 ^{bAB}	72,08±3,33 ^{bBC}	<0,001					
	T5	90,86±0,38 ^{aA}	89,52±0,32 ^{aA}	88,18±0,45 ^{aB}	90,05±1,13 ^{aA}	76,95±5,11 ^{bA}	78,75±1,37 ^{bA}	<0,001					
	T10	90,86±0,38 ^{aA}	89,52±0,32 ^{aA}	89,52±0,87 ^{aA}	89,27±1,73 ^{aA}	77,98±6,55 ^{bA}	69,73±1,79 ^{cC}	<0,001					
	T20	90,86±0,38 ^{aA}	89,52±0,32 ^{aA}	89,52±0,87 ^{abA}	87,05±1,13 ^{bB}	71,44±3,21 ^{cB}	73,48±1,51 ^{cB}	<0,001					
	P-Valor	1,000	1,000	0,025	<0,001	0,003	<0,001						
a*	TC	-3,39±0,14 ^{aA}	-3,85±0,10 ^{abA}	-4,20±0,23 ^{bA}	-5,60±0,25 ^{cC}	-5,95±0,59 ^{cA}	-6,52±0,20 ^{dA}	<0,001					
	T5	-3,39±0,14 ^{aA}	-3,85±0,10 ^{bA}	-4,74±0,10 ^{cB}	-4,53±0,18 ^{cA}	-6,02±0,37 ^{dAB}	-6,78±0,10 ^{eB}	<0,001					
	T10	-3,39±0,14 ^{aA}	-3,85±0,10 ^{bA}	-4,20±0,23 ^{cA}	-4,84±0,19 ^{dB}	-5,95±0,32 ^{eA}	-7,04±0,29 ^{fC}	<0,001					
	T20	-3,39±0,14 ^{aA}	-3,85±0,10 ^{bA}	-4,20±0,23 ^{bA}	-5,60±0,25 ^{cC}	-6,38±0,32 ^{dB}	-7,10±0,12 ^{eC}	<0,001					
	P-Valor	1,000	1,000	<0,001	<0,001	0,008	<0,001						
b*	TC	13,07±0,64 ^{dA}	16,44±0,22 ^{dA}	21,37±2,19 ^{cB}	25,94±0,81 ^{bA}	27,37±4,59 ^{bA}	31,62±1,39 ^{aB}	<0,001					
	T5	13,07±0,64 ^{dA}	16,44±0,22 ^{cA}	25,14±0,40 ^{bA}	23,88±1,88 ^{bA}	26,36±3,21 ^{bA}	33,43±0,97 ^{aA}	<0,001					
	T10	13,07±0,64 ^{dA}	16,44±0,22 ^{dA}	21,37±2,19 ^{cB}	24,50±2,07 ^{bcA}	26,71±3,98 ^{bA}	30,94±1,00 ^{aB}	<0,001					
	T20	13,07±0,64 ^{dA}	16,44±0,22 ^{dA}	21,37±2,19 ^{cB}	25,94±0,81 ^{bA}	26,36±4,25 ^{bA}	32,42±1,22 ^{aAB}	<0,001					
	P-Valor	1,000	1,000	<0,001	0,038	0,878	0,001						

TC: controle, sem cobertura de EM, T5: EM aplicada no dia 05, T10: EM aplicada dia 10 e T20: EM aplicada dia 20. Pt: efeito do tratamento; Pd: efeito dos dias; Pt x Pd: interação entre os tratamentos e os dias de maturação. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) entre o efeito de tratamentos. Letras minúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) entre o efeito de dias. Na interação, letras maiúsculas diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos e, letras minúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dias.

Tabela 5: Compostos bioativos e atividade antioxidante de queijos de leite cru com cobertura de erva-mate (EM) durante 60 dias de maturação a 8°C.

	Tratamentos				Maturação (dias)					Pt	Pd	Pt x Pd
	TC	T5	T10	T20	05	10	20	40	60			
CFT (mgEAG/g)	8,38 ^B	9,90 ^A	8,80 ^B	8,36 ^B	5,15 ^d	8,07 ^c	8,04 ^c	11,76 ^b	13,67 ^a	0,001	<0,001	0,127
FRAP (mgEAG/g)	0,36 ^B	0,76 ^A	0,44 ^B	0,42 ^B	0,38	0,59	0,58	0,34	0,48	<0,001	0,050	0,065
ABTS (%)	4,80 ^B	12,11 ^A	6,14 ^B	5,38 ^B	4,42 ^b	7,01 ^b	6,39 ^b	5,69 ^b	10,29 ^a	<0,001	<0,001	0,079

TC: controle, sem cobertura de EM; T5: cobertura de EM aplicada no dia 05; T10: cobertura de EM aplicada no dia 10; T20: cobertura de EM aplicada no dia 20. Pt: efeito do tratamento; Pd: efeito dos dias; Pt x Pd: interação entre os tratamentos e os dias de maturação. CFT: compostos fenólicos totais; FRAP: poder antioxidante de redução do ferro; ABTS: sequestro do radical livre ABTS. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos. Letras minúsculas na mesma linha apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dias de análise.

Tabela 6: Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS-mg/Kg) de queijos de leite cru com cobertura de erva-mate (EM) durante 60 dias de maturação a 8°C.

Tratamentos				Maturação (dias)						Pt	
TC	T5	T10	T20	01	05	10	20	40	60		
0,40 ^B	0,62 ^A	0,38 ^B	0,37 ^B	0,20 ^c	0,25 ^c	0,48 ^b	0,43 ^b	0,52 ^b	0,64 ^a	<0,001	
Interação				TC	0,20±0,04 ^{cA}	0,25±0,06 ^{bcA}	0,37±0,12 ^{bbB}	0,35±0,13 ^{bbB}	0,51±0,08 ^{abB}	0,58±0,10 ^{abB}	<0,001
				T5	0,20±0,04 ^{dA}	0,25±0,06 ^{dA}	0,87±0,27 ^{abA}	0,57±0,12 ^{bcA}	0,76±0,13 ^{abA}	1,01±0,53 ^{aA}	<0,001
				T10	0,20±0,04 ^{dA}	0,25±0,06 ^{cdA}	0,37±0,12 ^{bcB}	0,41±0,15 ^{abAB}	0,43±0,08 ^{abB}	0,55±0,14 ^{abB}	<0,001
				T20	0,20±0,04 ^{dA}	0,25±0,06 ^{cdA}	0,37±0,12 ^{bcB}	0,35±0,13 ^{bcB}	0,40±0,09 ^{bbB}	0,54±0,07 ^{abB}	<0,001
				P-Valor	1,000	1,000	<0,001	0,001	<0,001	<0,001	<0,001

TC: controle, sem cobertura de EM; T5: cobertura de EM aplicada no dia 05; T10: cobertura de EM aplicada no dia 10. Pt: efeito do tratamento. Letras maiúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) entre o efeito de tratamentos. Letras minúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) entre o efeito de dias. Na interação, letras maiúsculas diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os tratamentos e, letras minúsculas diferentes na mesma linha apresentam diferença significativa ($p < 0,05$) entre os dias.