

FACULDADE PERNAMBUCANA DE SAÚDE  
Departamento de Farmácia  
Biologicus, Laboratório de Pesquisa em Alimentos

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS  
MINAS FRESCAL PROBIÓTICOS DE LEITE DE BÚFALA COM E  
SEM ADIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (*Rosmarinus  
officinalis L.*) E MANJERICÃO (*Ocimum basilicum Linn*)**

**PHYSICAL CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL EVALUATION  
AND MINAS FRESCAL BUFFALOS ' MILK PROBIOTIC CHEESE  
WITH AND WITHOUT ADDITION OF (*Rosmarinus officinalis L.*) AND  
(*Ocimum basilicum Linn*) ESSENTIAL OIL.**

MARCO AURÉLIO DE SÁ MENEZES  
RAFAEL KABROSKI ANTUNES

Orientadora: Profa. Msc. SÍLVIA RENATA QUEIROZ DE FARIAS  
Co-orientadora: Profa. Msc. ROBERTA CLÁUDIA SANTOS NEVES

RECIFE  
2015

MARCO AURÉLIO DE SÁ MENEZES  
RAFAEL KABROSKI ANTUNES

**AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS  
MINAS FRESCAL PROBIÓTICOS DE LEITE DE BÚFALA COM E  
SEM ADIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (*Rosmarinus  
officinalis L.*) E MANJERICÃO (*Ocimum basilicum Linn.*)**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de conclusão de curso, do Curso Superior de Farmácia, da Faculdade Pernambucana de Saúde, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Msc Sílvia Renata Queiroz de Farias.

Co-orientadora: Profa. Roberta Cláudia Santos Neves.

RECIFE  
2015

FACULDADE PERNAMBUCANA DE SAÚDE, DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA  
BIOLOGICUS, LABORATÓRIO DE PESQUISA EM ALIMENTOS

MARCO AURÉLIO DE SÁ MENEZES,  
estudante de graduação, Faculdade Pernambucana de Saúde,  
(081) 99976-8956.  
maurelio2005@hotmail.com

RAFAEL KABROSKI ANTUNES,  
estudante de graduação, Faculdade Pernambucana de Saúde,  
(081) 98675-5597.  
rafkabroski@gmail.com

Orientadora:

SILVIA RENATA QUEIROZ DE FARIAS  
Mestre em Ciências Farmacêuticas, Farmacêutica industrial do Laboratório Farmacêutico do  
Estado de Pernambuco, Tutora do laboratório da Faculdade Pernambucana de Saúde,  
(081) 99904-0451.  
srqfarias@yahoo.com

Co-orientadora:

ROBERTA CLÁUDIA SANTOS NEVES  
Mestre em Química, Bolsista da empresa Biologicus,  
(081) 99601-0625.  
rneves@biologicus.com.br

## **AGRADECIMENTOS**

À empresa Biologicus que nos forneceu os meios necessários a realização deste trabalho.

À Faculdade Pernambucana de Saúde, com sua visão humanística na metodologia de ensino, formadora de cidadãos.

Às nossas orientadoras, Sílvia e Roberta, pela paciência e incentivo ao estudo.

## RESUMO

O presente trabalho avaliou as características físico-químicas e microbiológicas dos queijos Minas Frescal probióticos de leite de Búfala, com e sem adição de óleo essencial de Alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) e Manjerição (*Ocimum basilicum Linn*). Nos queijos foram quantificados a composição (proteína, lactose, gordura, minerais, cloretos, umidade, acidez) e o valor calórico, além de serem analisadas a presença ou ausência de microrganismos patogênicos segundo a RDC nº 12/2001 (Coliformes, Estafilococos e Salmonella). Os resultados dos constituintes nutricionais dos queijos ficaram próximos dos encontrados nos leites de búfalas de várias raças, demonstrando pouca interferência do processo de produção dos queijos na alteração da sua composição nutricional. O aumento da acidez do queijo está diretamente relacionado com o aumento da população de microrganismos e principalmente as bactérias lácticas, as quais são os principais agentes da transformação da lactose em ácido láctico, porém o caráter ácido do óleo essencial pode ter contribuído com uma discreta elevação desta propriedade no queijo que recebeu este aditivo. Não houve diferenças significativas na composição dos queijos analisados, demonstrando a não influência do óleo essencial nas características físico-químicas dos alimentos estudados, indicando bons caminhos para a utilização deste composto pela indústria alimentícia. A ausência de microrganismos patogênicos nas amostras indica que o processo de produção do queijo está dentro dos parâmetros recomendáveis pela legislação.

**Palavras-chave:** Queijo Minas Frescal. Probiótico. Leite de búfala. Óleo essencial.

## ABSTRACT

The present work evaluated physico-chemical and microbiological characteristics of Minas Frescal Cheese probiotics buffalo milk, with and without the addition of essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) and Basil (*Ocimum basilicum Linn.*). Were quantified cheeses composition (protein, lactose, fat, minerals, chlorides, humidity, acidity) and the calorific value, in addition were analyzed the presence or absence of pathogenic microorganisms according to RDC 12/2001 (Coliforms, Salmonella and Staphylococcus). The results of nutritional constituents of cheeses were close to those found in buffalo milk from various races, showing little interference from the cheese production process in alternating their nutritional composition. The increase of acidity in the cheese is directly related to the increase in population of microorganisms and especially lactic acid bacteria, which are the main agents of transformation of lactose into lactic acid, but the essential oil has an acid character and may have contributed to a slight rise this property in cheese that received this additive. There were no significant differences in the composition of the cheeses examined, showing no influence of essential oil on the physicochemical characteristics of the studied foods, indicating good ways to use this compound by the food industry. The absence of pathogenic microorganisms in the samples indicates that the cheese production process is within the recommended parameters by legislation.

**Keywords:** Minas Frescal cheese. Probiotic. Buffalo milk. Essencial oil.

## INTRODUÇÃO

O queijo Minas Frescal é um queijo de origem brasileira, sendo caracterizado como um queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas. É classificado como queijo semigordo (25 a 44% de gordura no extrato seco), de muita alta umidade (não inferior a 55%) a ser consumido fresco, de consistência branda e macia, de cor esbranquiçada, de sabor suave a levemente ácido, sem ou com crosta fina, de forma cilíndrica e com peso de 0,3 a 5,0 Kg<sup>1</sup>.

O interesse pela diversificação do uso do leite de búfala na elaboração de produtos derivados vem aumentando em virtude do elevado rendimento do processamento industrial, visto que o leite de búfala apresenta composição química superior em qualidade, em relação ao leite da vaca, em 43,81% nos sólidos totais, 43,60% na gordura, 17,10% no extrato seco desengordurado, 41,54% na proteína (caseína), 2,4% na lactose, 15,30% no resíduo mineral fixo, 42,10% no cálcio e 42,86% no fósforo<sup>2</sup>. Entretanto, apesar do valor nutritivo e rendimento industrial desse leite superarem o leite de vaca, pouco se tem feito para regulamentação de normas de padrão de identidade e qualidade desse leite<sup>3</sup>.

A tecnologia dos alimentos tem como objetivo melhorar a qualidade dos alimentos. Neste contexto, a utilização de bactérias probióticas conferem benefícios a saúde do hospedeiro. Entre estes benefícios estão o controle de infecções intestinais, melhor absorção de determinados nutrientes, melhor utilização de lactose e o alívio de sintomas de intolerância a esse açúcar, inibição de microrganismos patogênicos, redução dos níveis de colesterol, efeito anticarcinogênico e o aumento da resposta imunológica pelo estímulo da produção de anticorpos<sup>4 5 6</sup>.

A adição de produtos químicos aos alimentos com a finalidade de conservá-los ou melhorar suas características não é um processo moderno. O homem pré-histórico, com a

descoberta do fogo, começou a usar a defumação, utilizada até hoje na preservação de certas carnes e derivados. Depois, ele aprendeu a usar o sal na conservação de carnes e peixes, condimentos para melhorar a palatabilidade de certos alimentos e realizar fermentações de produtos vegetais e animais. Os antigos egípcios usaram corantes e aromatizantes e os romanos empregaram nitratos, especiarias e corantes para conservar os alimentos e melhorar a aparência, o aroma e o sabor, a textura, e, inclusive, torná-lo mais nutritivo<sup>7</sup>.

Como exemplo de aditivos com intenção de conservação dos alimentos temos o alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e o manjericão (*Ocimum basilicum*). Utilizados mundialmente como condimentos alimentares e possuindo algumas indicações farmacêuticas<sup>8</sup>, a composição dos seus óleos essenciais possuem atividade antimicrobiana, devido a substâncias como compostos fenólicos que estão presentes em sua estrutura química<sup>9</sup>. Esta característica despertou o interesse comercial nestas plantas, pois o apelo ao uso de produtos naturais como aditivos desperta um desejo maior do consumidor, que está mais preocupado com sua saúde.

A comercialização de um queijo de leite de búfala, que possui um excelente rendimento nutricional, aliado a adição de bactérias que promovam bons resultados a saúde do homem, possui um grande potencial de benefícios a vida. Se as características acima elencadas já constituem um boa imagem ao produto, a utilização do óleo essencial de plantas com o intuito de conservar o alimento finalizaria uma grande opção de consumo.



# **1 OBJETIVOS**

## **Objetivo geral**

- Analisar as constituições físico químicas do queijo minas frescal probiótico de leite de búfala após a adição do óleo essencial de manjeriço e alecrim. Assim como salientar a ação deste tipo de conservante no produto.

## **Objetivo específico**

- Realizar as análises físico químicas de acidez, teor de umidade, teor de cinzas, nitrogênio total, teor de sal, gordura, lactose e valor calórico conforme Instrução Normativa 68 (12/12/2006) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

- Realizar as análises microbiológicas de Coliformes, Estafilocos e Salmonella conforme RDC 12/2001 da ANVISA.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Leites da Universidade Federal Rural de Pernambuco, nos Laboratórios de Físico-química da Faculdade Pernambucana de Saúde e no laboratório de pesquisa em alimentos da empresa Biologicus. As formulações foram desenvolvidas com leite providos da empresa Faco. Os demais ingredientes como coalho, ácido láctico, cloreto de cálcio, o probiótico e o óleo essencial foram disponibilizados pela empresa Biologicus, assim como os objetos de estudo.

### 2.2 Métodos

Foram desenvolvidas 2 formulações de queijo Minas frescal com e sem adição de óleo essencial. As formulações foram submetidas à análise microbiológica e físico-química, todos os testes foram realizados em triplicata.

#### 2.2.1 Formulações

Foram desenvolvidas 2 formulações, uma formulação de queijo Minas frescal padrão sem a utilização de óleo essencial das plantas, e a outra formulação com a utilização do conjunto de óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) e manjerição (*Ocimum basilicum Linn.*).

O óleo essencial, por se tratar de uma substância volátil, necessita de uma etapa específica para sua adição no produto desejado. No caso ele foi adicionado na etapa de salga do queijo, momento em que o produto já está em temperatura ambiente. Assim como o cuidado com a elevação da temperatura após a adição do probiótico, evitando a redução da quantidade de colônias.

### 2.2.2 Ingredientes

O leite adquirido para a fabricação dos queijos Minas frescal foi previamente pasteurizado, antes de sua utilização. O óleo essencial foi obtido através do método de hidrodestilação, onde a extração foi realizada no próprio laboratório da empresa Biologicus.

**Tabela 1.** Proporção do óleo essencial na formulação

<b>Amostra</b>	<b>Com óleo essencial</b>	<b>Sem óleo essencial</b>
<i>(Rosmarinus officinalis L.)</i>	0,2%-0,6%	0%
<i>(Ocimum basilicum Linn.)</i>	0,6%-0,8%	0%

### 2.2.3 Processamento

O processamento do queijo Minas frescal probiótico de leite de búfala foi feito no Laboratório de pesquisa em alimentos da empresa Biologicus, o leite foi adicionado no banho maria aqueceu-se até aproximadamente 37 °C. Com a temperatura estabilizada, adicionou-se o cloreto de cálcio, a enzima e por último o coalho. Após 40 minutos verificou-se o ponto da coalhada e foi realizado o corte com liras onde se obteve os grãos. Durante 3 minutos deixou-se em repouso a massa. Realizou-se a mexedura durante 30 minutos, foi removido o soro e realizou-se a salga, colocou a massa em formas, adicionou a formulação de óleo essencial e prensou-se por 15 minutos cada lado. Após a prensagem os queijos foram armazenados em câmara fria (12°C) por 12 horas e embalados a vácuo em embalagens de polietileno, segundo a metodologia de Furtado e Neto<sup>10</sup>.

### 2.2.4 Análises físico-químicas

#### 2.2.4.1 Acidez em ácido láctico

Para a análise de acidez em ácido láctico, pesou-se 5g de cada formulação em um becker de 100mL, adicionou-se 10mL de água destilada na temperatura de 30 a 40°C, com um bastão de vidro misturou-se a amostra até que uma pasta fosse formada, adicionou-se mais 50mL de água destilada e filtrou-se a amostra para retirar as partes sólidas, após foram

adicionadas 4 gotas do indicador fenolftaleína 1% e titulou-se com NaOH 0,1N até que obteve-se uma coloração levemente rosada na amostra, seguindo as normas do Instituto Adolfo Lutz<sup>11</sup>.

#### *2.2.4.2 Lipídeos (método de Bligh & Dyer)*

A Análise de gordura ou de lipídeos totais nos queijos foram baseadas por meio da metodologia de Bligh & Dyer. Este método baseia-se na extração de gordura com solventes a frio, utilizando clorofórmio-metanol-água. A fração lipídica da amostra fica retida no clorofórmio, que posteriormente vai a estufa para secar, sobrando apenas a gordura.

#### *2.2.4.3 Umidade (estufa a 105°C)*

Para a análise de umidade as amostras foram pesadas em cadinhos de porcelana, previamente secados em estufa 105°C durante 30 minutos, após a pesagem as amostras permaneceram na mesma estufa durante 3 horas. Resfriou-se os cadinhos em dessecador até a temperatura ambiente e pesou-se a amostra até a mesma apresentar peso constante, seguindo as normas do Instituto Adolfo Lutz<sup>11</sup>.

#### *2.2.4.4 Nitrogênio total (kjeldahl)*

Para realizar a análise de proteína pesou-se cerca de 5 gramas de cada amostra, colocou-se a amostra em um tubo de Kjeldahl e fez-se a adição de uma mistura catalítica que permaneceu no digestor durante 3 horas, com as amostras já digeridas adicionou-se 25mL de ácido bórico e 4 gotas do indicador misto com vermelho de metila e azul de metileno, ligou-se o destilador de nitrogênio e esperou-se aproximadamente 10 minutos para a caldeira esquentar, adicionou-se 20mL de NaOH no copo dosador, este, aqueceu-se, notando-se uma ligeira coloração rosa lilás, liberando amônia para dentro do erlenmeyer que continha a

solução receptora de ácido bórico, formando borato de amônia. A destilação e condensação durou cerca de 5 minutos. Após esse intervalo de tempo, o erlenmeyer com o borato de amônia chegou a um volume de 50mL, então zerou-se a bureta com HCl e realizou-se a titulação até que obteve-se uma coloração rósea alaranjada, onde constatou-se o ponto de viragem.

#### *2.2.4.5 Cinzas (incineração em mufla)*

Cinzas por calcinação em mufla a 550°C. A amostra é incinerada até que não reste mais nenhum resíduo de cor preta, segundo instrução normativa 68 do Ministério da Agricultura.

#### *2.2.4.6 Valor calórico (RDC 360, 23/12/2003)*

O teor de carboidrato foi calculado subtraindo de 100 os teores detectados de cinzas, proteínas, lipídeos e umidade. Já o valor energético ou o valor calórico das amostras de queijo foram calculados pela soma da porcentagem de carboidrato e proteína multiplicado por quatro e de lipídeo multiplicado por nove, segundo Resolução 360, de 23 de dezembro de 2003 da ANVISA.

#### *2.2.4.7 Lactose (Lane-Eynon)*

Método volumétrico de Lane-Eynon, que se baseia na redução de um volume conhecido do reagente de cobre alcalino (Reagente de Fehling) a óxido cuproso. O ponto final é indicado pelo azul de metileno.

#### 2.2.4.8 Cloretos (*Método de Mohr*)

A determinação dos cloretos baseou-se na titulação potenciométrica dos íons cloreto em meio ácido com solução padrão de nitrato de prata (método de Mohr).

#### 2.2.5 Análises microbiológicas

As formulações do queijo Minas frescal foram submetidas às análises microbiológicas estabelecidas pela Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA, que são indicadoras de contaminação ambiental, fecal e do manipulador sendo elas: coliformes 35°, *Staphylococcus coagulans* e positiva e contagem de *Staphylococcus aureus*. A metodologia empregada para as análises microbiológicas segue a proposta de SILVA et. al. (2007) e a Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 do MAPA. As embalagens dos queijos foram desinfetadas através da limpeza com álcool 70%.

A análise baseia-se na presença ou ausência destes microorganismos. O método utilizado foi o NMP, método do número mais provável, no teste presuntivo as amostras foram inoculadas em Caldo Lauril Sulfato Triptose (CLST) os tubos foram incubados por 48h/35°C e a produção de gás a partir da lactose é considerada presuntiva (suspeita) da presença de coliformes. Para a confirmação dos coliformes a 35°C, uma alçada de cada tubo suspeito foi transferida para o Caldo Verde Brilhante Bile (VBB) e foram incubados por 48h/35°C. A presença de crescimento e gás é considerada confirmativa para coliformes totais.

Na contagem de *Staphylococcus* utilizou-se o método de coagulase-positiva Foram selecionadas 3 diluições de cada amostra, das quais 0,1 mL foi semeado na superfície de placas contendo ágar Baird-Parker, o inóculo foi espalhado com o auxílio da alça de Drigalsky, as placas invertidas e incubadas a 35° C durante 48h. A partir das colônias típicas foram realizadas as provas de catalase e coagulase<sup>12</sup>.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp.. Foi necessário 25 g de cada amostra que foram transferidos para frascos contendo 225 mL de caldo de pré-enriquecimento e incubados a 42°C durante 18 a 24h. Posteriormente, foi realizado o enriquecimento seletivo, com 1 mL da amostra foi transferida para 2 tubos, um contendo caldo selenito cistina (SC) e outro caldo Rappaport Vassiliadis (RV), incubados a 42° C durante 24h. O plaqueamento diferencial foi realizado a partir dos tubos incubados, semeando através de estrias uma alçada do caldo SC na superfície do Ágar Bismuto Sulfito (BS) e outra alçada em Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD).

### 3 RESULTADO E DISCUSSÃO

#### 3.1 Características físico-químicas

Na Tabela 2, podem-se observar os valores médios encontrados nas análises físico-químicas do queijo Minas frescal com e sem óleo essencial.

**Tabela 2.** Resultados dos testes físico químicos dos queijos\*.

<b>Amostra</b>	<b>Com óleo essencial</b>	<b>Sem óleo essencial</b>
Lipídeos	6,01%	6,27%
Proteína	3,5%	3,3%
Umidade	56,34%	55,64%
Cinzas	2,63%	2,77%
Cloretos	0,624%	0,609%
Lactose	4,97%	4,90%
Acidez	0,09%	0,08%
Valor calórico	194,17 Kcal	197,71 Kcal

\* Os testes foram realizados em triplicata. Foram demonstrados apenas as médias obtidas.

O aumento da acidez do queijo está diretamente relacionada com o aumento da população de micro-organismos e principalmente as bactérias lácticas, as quais são os principais agentes da transformação da lactose em ácido láctico<sup>13</sup>. Porém o caráter ácido do óleo essencial pode ter contribuído para o pequeno aumento apresentado.

Já para o teor de lipídios, os queijos obtiveram resultados entre 6,01% e 6,27% de gordura, e foram classificados como queijo Desnatado, ou seja, quando contém menos de 10,0% de gordura. De acordo com Furtado, o teor de lipídios no queijo Minas frescal varia segundo vários fatores, dentre eles a raça do animal e a porcentagem de gordura do leite<sup>14</sup>. A exemplo disso temos na tabela 3, o resultado de um estudo<sup>3</sup> que comparou as raças de búfalas e sua influência na alteração dos constituintes do seu leite. Apesar de não ter sido o objetivo



deste trabalho, o estudo citado, serve como comparação aos resultados físico-químicos obtidos dos queijos de búfala estudados. Os resultados alcançados de proteína, lipídeos e lactose ficaram próximos das análises do estudo de Amaral, que indica que o processo de produção do queijo não alterou significativamente os nutrientes contidos no leite<sup>3</sup>.

**Tabela 3.** Valores médios dos constituintes do leite de búfalas encontrados em trabalhos realizados no Brasil

<b>Autor</b>	<b>Raça</b>	<b>Gordura</b>	<b>Proteína</b>	<b>Lactose</b>
Furtado (1980)	Murrah x Mediterrânea	6,60%	4,79%	<b>5,52%</b>
Antunes <i>et al.</i> (1988)	Murrah	6,15%	4,10%	-
Macedo <i>et al.</i> (1997)	Mediterrânea	6,59%	4,13%	-
Faria <i>et al.</i> (1997)	Mediterrânea Jafarabadi	6,12% 6,32%	3,80% 3,66%	- -
Mesquita <i>et al.</i> (2002)	Média geral das raças	6,80%	4,01%	<b>5,52%</b>
Amaral <i>et al.</i> (2004)	Média geral das raças	6,83%	4,19%	<b>4,93%</b>

Fonte: (AMARAL)<sup>3</sup>.

### 3.2 Características microbiológicas

As amostras de queijo se enquadraram nos parâmetros permitidos pela Anvisa, conforme Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001<sup>15</sup>, cujo padrão para o grupo dos coliformes fecais é de  $< 5,0 \times 10^2$  NMP/g. É importante ressaltar que os coliformes fecais pertencem a um grupo de microrganismos que tem habitat no trato intestinal do homem e outros animais, portanto sua presença neste alimento garante contato direto do produto com fezes, evidenciando assim o risco para a saúde dos consumidores, devido à alta patogenicidade do microrganismo.

Também foram realizadas as pesquisa de Staphylococcus coagulase positiva e Salmonella, onde os resultados encontrados indicaram ausência destes patógenos em 25 g das

amostras pesquisadas, em acordo com os padrões estabelecidos pela ANVISA (RDC 12/2001), que são  $< 5 \times 10^2$  UFC e ausência respectivamente.

A atividade antimicrobiana de bactérias lácticas face aos microrganismos patogênicos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* já foi demonstrada por vários autores<sup>16 17 18 19 20</sup>, servindo como aliada aos processos de higiene e segurança estabelecidos pela legislação. Os resultados microbiológicos confirmaram o correto processo de produção do queijo.

## 4 CONCLUSÃO

Neste trabalho caracterizou-se as constituições físico químicas do queijo minas frescal probiótico de leite de búfala adicionado de óleo essencial de (*Rosmarinus officinalis L.*) e manjeriço (*Ocimum basilicum Linn.*) assim como salientou a não presença de microorganismos patógenos.

Nas análises físico-químicas entre o queijo Minas sem óleo essencial e o com óleo essencial, verificou-se um aumento pequeno no teor que está relacionado com o crescimento de micro-organismos contaminantes e bactérias lácticas. O percentual de acidez láctica foi maior na amostra com o óleo essencial. As análises de gordura, umidade, cinzas, proteína, cloretos e valor calórico estão dentro das estabelecidas pela legislação, classificando o queijo produzido como desnatado e de alta umidade.

Quanto às análises microbiológicas presumiu-se que não existiu nenhum tipo de vetor patógeno contaminado as amostras analisadas. Podemos concluir também que o processo de produção do queijo por completo esteja dentro dos parâmetros recomendáveis. Um fator importantíssimo para o aumento da vida útil do produto.

Embasado nos resultados apresentados, o presente trabalho mostrou que a adição do óleo essencial não demonstra alteração na constituição físico química do queijo, enfatizando a possível utilização deste tipo de produto como alternativa promissora aos conservantes utilizados no mercado atual.

## REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade do leite e produtos lácteos. **Portaria n° 352 de 04 de setembro de 1997**. Diário Oficial da União de 08/09/1997, seção 01, p.19684. Brasília, 1997.
2. Huhn S, Guimarães MCF, Nascimento CNB, Carvalho LODM, Moreira ED, Lourenço Júnior JB. Estudo comparativo da composição química do leite de zebuínos e bubalinos. **Boletim de Pesquisa**. n. 36. Belém: EMBRAPA/CPATU, 1982. 14p.
3. Amaral FR. *et al.*; Composição e contagem de células somáticas em leite bubalino na região do alto São Francisco, Minas Gerais, Brasil. **Rev. Instituto Candido Tostes**, v.59. p. 37-41, 2005.
4. Vasiljevic T, Shah NP. Review Probiotics: From Metchnikoff to bioactives. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 714-728, 2008.
5. Saarela M, Mogensen G, Fonde R.; Maltto J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. **Journal of Biotechnology**, v. 84, p. 197–215, 2000.
6. Schmid K *et al.* Development of probiotic food ingredients. In: Probiotics in food safety and human health. **Boca Raton**: Taylor & Francis, 2006.
7. Gava AJ *et al.* **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 2008.
8. Carvalho Júnior PM, Rodrigues RF, Sawaya AC, Marques, MO, Shimizu MT. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenaceae* D.C. **J Ethnopharmacol** 95: 297-301, 2004.
9. Janssen, AM, Scheffer JJC, Baerheim-Svendse A. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. **Planta Med** 53: 395-398 1987.
10. Furtado MM, Lourenço Neto JPM. **Tecnologia de Queijos**: Manual Técnico para a Produção Industrial de queijos. São Paulo: Dipemar, 1994.
11. Instituto Adolfo Lutz. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 4. ed. digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. v.1.
12. American Public Health Association (APHA). Committee on Microbiological Methods for Foods. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. Washington: APHA, 1992.
13. Sangaletti N, Porto E, Brazaca SGC, Yagasaki CA, Dea RCD, Silva MV. Estudo da vida útil de queijo Minas. **Ciênc. Tecn. de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 262-269, 2009.
14. Furtado MM. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção**. rev. e ampl. São Paulo: Fonte Comunicação, 2005.

15. Brasil. Anvisa. **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Disponível em: <[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC\\_12\\_2001.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47bab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES)>. Acesso em: 16 maio 2015.
16. Alexandre DP, Silva MR, SOUZA MR. **Antimicrobial activity of lactic acid bacteria from artisanal Minas cheese against indicator microorganisms**, 2002.
17. Caridi A, Micari P, Foti F, Ramondino D, Sarullo V. **Ripening and seasonal changes in microbiological and chemical parameters of the artisanal cheese Caprino d'Aspromonte produced from raw or thermized goat's milk**, 2003.
18. Guedes Neto LG. *et al.* Atividade antimicrobiana de bactérias ácido-láticas isoladas de queijos de coalho artesanal e industrial frente a microrganismos indicadores. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 57, p. 245-250, 2005.
19. Martins ADO, Mendonça RCS, Silva DL, Ramos MS, Martins MC, Donzele JL *et al.* Resistência de bactérias lácticas, isoladas de fezes de suínos e sua capacidade antagônica frente a micro-organismos indicadores. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, 2006.
20. Chioda TP, Iturrino RPS, Garcia GR, Pigatto CP, Ribeiro CAM, Ragazzani AVR. Inibição do crescimento de *Escherichia coli* isolada de queijo "Minas Frescal" por *Lactobacillus acidophilus*. **Ciência Rural**, Santa Maria, 2007.