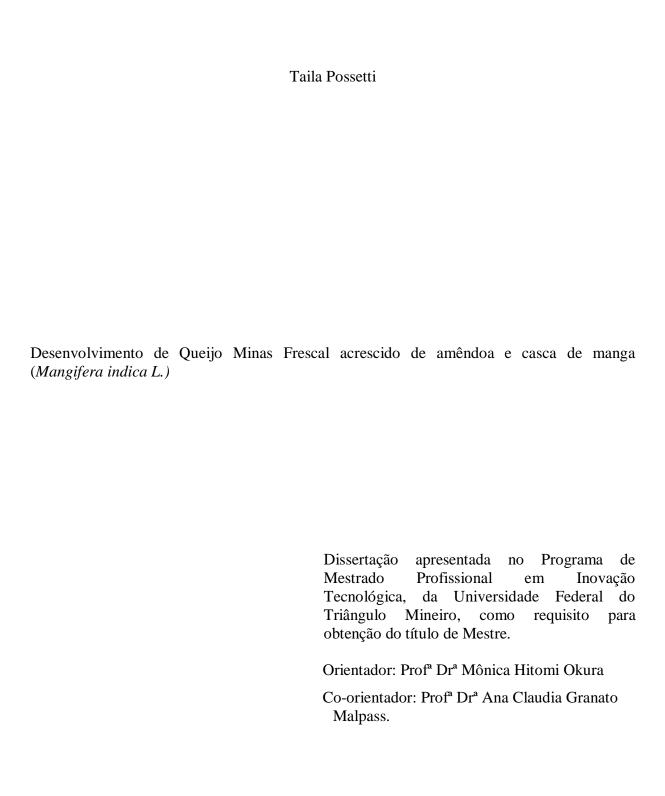
# UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO PROGRAMA DE MESTRADO PROFISSIONAL EM INOVAÇÃO TECNOLÓGICA

I KOOKAWA DE I	WILSTRADOT	KOLIBBI	ONAL EM	INOVAÇÃO	LECIO	LOGICA
		Taila P	ossetti			
Desenvolvimento de	Queijo Minas	Frescal	acrescido	de amêndoa	e casca	de manga
(Mangifera indica L.)						
			Orientad	or: Prof <sup>a</sup> Dr <sup>a</sup> l	Mônica H	itomi Okura.
			Co-orier	ntador: Prof	Dr <sup>a</sup> A	na Claudia
				Malpass		
				1		



# Catalogação na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Possetti, Taila

P889d

Desenvolvimento de queijo minas frescal acrescido de amêndoa e casca de manga ( $Mangifera\,indica\,L.$ ) / Taila Possetti. -- 2017.

54 f.: il., fig., graf., tab.

Dissertação (Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2017 Orientadora: Profa. Dra. Mônica Hitomi Okura Coorientadora: Profa. Dra. Ana Claudia Granato Malpass

1. Queijo. 2. Queijo-de-minas. 3. Agentes antiinfecciosos. 4. Manga. 5. Agroindústria - Eliminação de resíduos. I. Okura, Mônica Hitomi. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

CDU 637.35

## TAILA POSSETTI

Desenvolvimento de Queijo Minas Frescal acrescido de amêndoa e casca de manga (Mangifera indica L.)

Dissertação apresentada no Programa de Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Uberaba, 27 de outubro de 2017

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Mônica Hitomi Okura Orientadora – PMPIT – UFTM

1 -0 - 1

Profa. Dra. Priscila Pereira Silva Membro Titular – UFTM

Profa. Dra. Carolina Rodrigues da Fonseca Membro titular – IFTM

# **DEDICATÓRIA**

Quero agradecer, em primeiro lugar, a Deus, porque ele foi quem me deu força e coragem durante toda esta longa caminhada.

Dedico este Trabalho também as pessoas que me acompanharam nessa jornada, sempre me incentivando a crescer. Em especial aos meus pais, Marcela e Leonel, pela confiança, dedicação e força nos momentos difíceis, e aos meus eternos amigos pela amizade, compreensão e paciência durante todo esse caminho percorrido.

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por ter nos ajudado a vencer mais esta batalha.

Agradeço a minha família pela compreensão, confiança e incentivo.

Agradeço a minha orientadora e amiga, professora Doutora Mônica Hitomi Okura pela oportunidade, pela orientação e direcionamento dos estudos e trabalhos, pelos ensinamentos, paciência, compreensão, incentivo, conhecimentos transmitidos e pelo tempo dispensado para a realização desse projeto, a você Monica por ter me aceitado meu muito obrigado.

Agradeço a minha co-orientadora professora Doutora Ana Claudia Malpass pelo companheirismo, apoio e pelo maravilhoso trabalho em equipe.

Aos professores, membros da banca examinadora, e a tantos outros que fizeram parte da minha vida, que com seus exemplos me incentivaram e despertaram em mim a admiração pela vida acadêmica.

Aos queridos amigos responsáveis pelos Laboratórios que tanto me apoiaram, ajudaram e dividiram comigo as alegrias e tensões desde ano.

Agradeço a todos meus amigos queridos, aos demais colegas pela amizade, assim como a todos os professores pelos ensinamentos e amizade, e a todos que colaboraram para a realização desse trabalho.

Agradeço também a instituição Universidade Federal do Triângulo Mineiro, pelo excelente Programa de Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica, assim como a todos os funcionários que trabalham pelo desenvolvimento da educação.

#### **RESUMO**

O queijo Minas Frescal é um queijo popular e um dos mais produzidos no Brasil, mas apresenta um tempo de vida útil pequeno, no máximo 20 dias. As bactérias Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella ssp e Listeria monocytogenes são consideradas os principais agentes contaminantes associados à deterioração deste queijo, causando fermentações anormais e estufamento precoce. Para aumentar o tempo de vida útil dos alimentos, especiarias e os óleos essenciais são utilizados como agentes de conservação, uma vez que possuem ação antimicrobiana, reduzindo ou eliminando as bactérias patogênicas. A casca e a amêndoa extraída de mangas das variedades; Tommy Atkin, Coquinho e Espada resíduos da indústria que possuem compostos fenólicos como as categuinas que são demonstram atividade antimicrobiana. O presente trabalho objetivou testar a utilização do extrato de casca e amêndoa de manga como antimicrobiano sobre os microrganismos Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella e Listeria monocytogenes no queijo Minas Frescal. A extração dos compostos fenólicos dos resíduos foi realizada com etanol (80%) e a quantificação foi realizada pelo Reagente de Folin-Ciocalteu. Foram realizados cinco tratamentos: Queijo controle (sem adição de extrato); Queijo adicionado do extrato da amêndoa da manga Espada, Queijo adicionado do extrato da amêndoa da manga Coquinho, Queijo adicionado do extrato da amêndoa da manga Tommy Atkins e Queijo adicionado do extrato da casca da manga Coquinho. Foram realizadas analises físico-química. Contagem dos microrganismos no decorrer de 20 dias de armazenamento. A quantidade de compostos fenólicos totais no extrato dos resíduos de manga variou de 7,8 a 15,53 mg EAG/100 g. Os queijos com o extrato adicionado apresentaram redução significativa da carga microbiana quando comparados ao queijo controle, a um nível de 5 % de significância. Com a utilização do extrato na fabricação, os compostos fenólicos presentes conseguiram inibir o crescimento microbiano. Portanto, o resíduo agroindustrial da manga pode ser amplamente utilizado como fonte alternativa de compostos fenólicos pela indústria alimentícia com a utilização na formulação de novo produtos.

Palavras-chave: Queijo Minas Frescal, Resíduo de manga, Antimicrobiano.

#### **ABSTRACT**

The minas frescal cheese is a popular cheese and one of the most produced in Brazil, but it has a small shelf life, maximum 20 days. The bacteria Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella ssp and Listeria monocytogenes are considered the main contaminating agents associated to the deterioration of this cheese, causing abnormal fermentations and early puffing. To increase the shelf life of foods, spices and essential oils are used as preservatives, since they have antimicrobial action, reducing or eliminating the pathogenic bacteria. Peel and almond extracted from mangoes of varieties; Tommy Atkin, Coquinho and Espada are industry waste that have phenolic compounds such as catechins that demonstrate antimicrobial activity. The present work aimed to test the use of peel and mango as an antimicrobial extract on the microorganisms Escherichia coli, Staphylococcus aurus, Salmonella and Listeria monocytogenes in Minas Frescal cheese. Extraction of the phenolic compounds from the residues was performed with ethanol (80%) and quantification was performed by the Folin-Ciocalteu Reagent. Five treatments were carried out: Control cheese (without addition of extract); Added Mango Almond Extract Cheese Sword, Added Mango Almond Extract Cheese Coke, Added Tommy Atkins Almond Extract Cheese and Mango Added Peel Extract Cheese Coquinho. Physicochemical analyzes were performed. Counting of microorganisms during the 20 days of storage. The amount of total phenolic compounds in the mango waste extract ranged from 7.8 to 15.53 mg EAG / 100 g. The cheeses with the added extract presented a significant reduction of the microbial load when compared to the control cheese, at a level of 5% of significance. With the use of the extract in the manufacture, the phenolic compounds present were able to inhibit the microbial growth. Therefore, the agroindustrial residue of the mango can be widely used as an alternative source of phenolic compounds by the food industry with the use in the formulation of new products.

Keywords: Minas Frescal Cheese, Mango Residue, Antimicrobial Products.

# LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Resíduos de manga utilizados: casca e amêndoa
FIGURA 2 - Visualização de concentração mínima inibitória de extrato de mangas frente a E. coli e S. aureus
FIGURA 3 - Fluxograma do processo de fabricação do Queijo Minas Frescal utilizando leite
cru com finalidade acadêmica para realização da analise microbiológica25
FIGURA 4 - Modelo de ficha para avaliação sensorial de Queijo Minas Frescal31
FIGURA 5 - Quantidade de compostos fenólicos totais presente em extratos de casca e amêndoa de diferentes variedades de manga
<b>FIGURA 6 -</b> Placas com formação do halo de inibição para diferentes diluições de extratos de casca e amêndoa de manga para a inibição do crescimento de S. <i>aureus</i> e E. <i>coli</i>
FIGURA 7 - Resultados da variação do pH dos Queijos Minas Frescal de 0 a 20 dias de armazenamento
FIGURA 8 - Resultado da Análise de acidez dos Queijos Minas Frescal no decorrer de 20 dias adicionados de extrato de casca e amêndoa de manga
FIGURA 9 - Notas da aceitabilidade geral das formulações de Queijo Minas Frescal adicionados de extrato de casca e amêndoa de manga

# LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Composição Centesimal do Queijo Minas Frescal.    15
TABELA 2 - Padrões microbiológicos estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância
Sanitária em Queijo Minas Frescal16
TABELA 3 - Análises físico-químicas de Queijo Minas Frescal fabricados com extrato de casca e amêndoa de manga
<b>TABELA 4</b> – Populações de coliformes a 45°C nos queijos durante os 20 dias de armazenamento para os queijos controle, com extrato de amêndoa Tommy, com extrato de amêndoa coquinho, com extrato de amêndoa espada e com extrato de casca de manga espada
<b>TABELA 5</b> – Contagem de <i>Staphylococus</i> coagulasse positiva nos queijos durante os 20 dias de armazenamento para os queijos controle, com extrato de amêndoa Tommy, com extrato de amêndoa coquinho, com extrato de amêndoa espada e com extrato de casca de manga espada.
<b>TABELA 6 -</b> Media das notas atribuídas da escala hedonica de 9 pontos, para as diferentes formulções de Queijo Minas Frescal e seus atributos pelos provadores na análise sensorial

# **SUMÁRIO**

1 INTRODUÇÃO
2 OBJETIVOS
2.1 OBJETIVO GERAL 13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS
3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA
3.1 QUEIJO MINAS FRESCAL
3.1.2 Qualidade do queijo Minas Frescal
3.2 MANGA (MANGIFERA INDICA L.)
3.2.1 Variedades de Mangas
3.2.2 Residuos da Manga: casca e amêndoa
4. MATERIAL E MÉTODOS
4.1 OBTENÇÃO DA CASCA E DA AMÊNDOA DO FRUTO
4.2. OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA E DA AMÊNDOA 22
4.3 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DOS EXTRATOS
4.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO De diferentes concentrações de EXTRATO, NO CONTROLE DA Escherichia coli e Staphylococcus aureus
4.5 PRODUÇÃO DOS QUEIJOS MINAS FRESCAL
4.5.1 Queijo controle
4.5.2. Queijo com o extrato de manga
4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS
4.6.1 Umidade
4.6.2 Cinzas
4.6.3 Lipídio
4.6.4 Proteína 27
4.6.5 pH
4.6.6 Acidez28
4.7. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA28

4.7.1. Staphylococcus coagulase positiva	28
4.7.2. Coliformes a 45°C	29
4.7.3. Listeria monocytogenes	29
4.7.4 Salmonella ssp	29
4.8 ANÁLISE SENSORIAL	30
4.9 ESTATÍSTICA	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	31
5.2 CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI) E FORAMÇÃO DO HALO INIBIÇÃO	
5.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	33
5.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	36
5.6 ANÁLISE SENSORIAL	38
6 CONCLUSÃO	40
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
APÊNDICE A – PARECER DO COMITÊ EM ÉTICA E PESQUISA	51
APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	52

# 1 INTRODUÇÃO

O aumento da procura dos consumidores por produtos alimentares naturais tem exercido certa pressão sobre a indústria e agências reguladoras para a busca de outros métodos de conservação. Distintos dos tradicionais, especialmente com relação ao uso de substâncias conservantes, muitas pesquisa científicas têm estudado compostos naturais visando sua utilização como antimicrobianos para impedir ou controlar o crescimento de agentes patogênicos e deteriorantes em alimentos.

O leite está entre os seis primeiros produtos mais importantes da agropecuária brasileira, ficando a frente de produtos tradicionais como café beneficiado e arroz. O Agronegócio do Leite e seus derivados desempenha um papel relevante no suprimento de alimentos e na geração de emprego e renda para a população. O país possui acima de 1,1 milhão de propriedades que exploram leite, ocupando diretamente 3,5 milhões de pessoas. Cerca de 11 bilhões de litros de leite/ano são transformados em queijos no País, sem considerar a produção informal (PACHECO et al., 2012).

Além da sua importância social, o leite é rico em uma grande quantidade de nutrientes essenciais ao crescimento e a manutenção de uma vida saudável, sendo possível a elaboração de diversos produtos lácteos, como por exemplo os queijos.

No Brasil existem vários tipos de queijos frescos produzidos de forma artesanal e industrial, tanto por pequenos produtores quanto por diversas indústrias. Esses queijos são muito populares e devido ao bom rendimento, são comercializados a preço acessível a uma grande faixa da população, por apresentar elevado rendimento na fabricação (DIAS et al., 2016).

Foram produzidos 867,1 mil toneladas de queijos no país, 9,4% mais que em 2010, segundo dados divulgados pela Associação Brasileira das Indústrias de Queijos (ABIQ, 2015).

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ, 2016), a produção de leite no Brasil, em 2015, ficou em aproximadamente 34 bilhões de litros. Desse volume, 24 bilhões de litros foram captados por indústrias. Do leite inspecionado e processado, 46% (11 bilhões de litros) foram transformados em queijos. Desse total, 32% foram queijos considerados como *commodities* intermediárias sendo essa a classificação para o queijo Minas Frescal.

O consumidor, quando compra um queijo, espera que: o produto satisfaça suas expectativas sensoriais, seja nutritivo e, além disso, seja seguro sob o ponto de vista

microbiológico. Os fabricantes de queijos esperam que os produtos mantenham essas características pelo maior tempo possível após o processamento, ou seja, tenham uma longa vida de prateleira. Em produtos lácteos, um dos maiores fatores limitantes do período de validade é o desenvolvimento microbiano (LOGUERCIO e ALEIXO, 2001).

As principais fontes de contaminação na indústria de queijos podem ser a matériaprima, devendo- se assegurar que o leite seja proveniente de vacas saudáveis e haja boas
práticas de higiene na ordenha e no manuseio. Já na indústria as instalações, os equipamentos,
as embalagens e o manuseio também podem ser fontes de contaminação. Assim, é necessário
um controle rigoroso das condições higiênico-sanitárias destas etapas a fim de se evitar o
crescimento de microrganismos deteriorantes, bem como a exposição do consumidor a
alimentos contaminados com microrganismos que podem causar danos à saúde. Diversos
métodos de conservação podem ser utilizados para impedir ou reduzir o desenvolvimento
destes microrganismos, como resfriamento, calor, irradiação, produtos químicos ou
conservantes, dentre outros (VIANA, 2011).

A manga (*Mangifera indica* L.) está entre as 10 culturas mais plantadas no mundo, com produção de mais de 28,8 milhões de toneladas em 2014 (ARBOS, STEVANI e CASTANHA, 2013). Segundo a Embrapa (2014), o Brasil é o sétimo produtor mundial de manga, produzindo cerca de 1 milhão de toneladas em 2014, sendo a região Nordeste a maior produtor com 780 mil toneladas, seguido pelo sudeste com 360 mil toneladas, as mangas são destinada à industrialização, ao consumo interno e à exportação. O Brasil é o 7° maior produtor segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –EMBRABA, 2014.

Elevada quantidade de resíduos (cascas e sementes) são gerados pelo processamento industrial da manga, os quais, sem aplicação viável, acabam sendo descartados diretamente no meio ambiente. Tais resíduos apresentam grandes quantidades de compostos bioativos entre eles os compostos fenólicos e os antioxidantes, que podem ser utilizados em outros processos tecnológicos (ARBOS, STEVANI e CASTANHA, 2013).

Estudos demonstraram que o extrato da amêndoa de frutos de manga reduz a contagem bacteriana total e exerce atividade antimicrobiana notável contra microrganismos além de prolongar a vida útil do leite pasteurizado. Nessa perspectiva entra o importante papel dos resíduos da manga que aliados à tecnologia possibilitam o desenvolvimento de alimentos seguros do ponto de vista microbiológico, podendo ser adicionados em alimentos como o queijo com o objetivo de diminuir o desenvolvimentos dos microrganismos presente e assim aumentar a vida de prateleira desse alimento.

#### **2 OBJETIVOS**

#### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial antimicrobiano de casca e amêndoa de mangas das variedades Tommy Atkins, Espada e Coquinho na conservação do queijo Minas Frescal.

# 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter extratos das amêndoas e das cascas a partir de frutos de manga das variedades
   Tommy Atkins, Espada e Coquinho;
- Quantificar os compostos fenólicos totais dos extratos das amêndoas e das cascas de mangas Tommy Atkins, Espada e Coquinho;
- Apontar a Concentração Mínima Inibitória (CMI) dos extratos das amêndoas e das cascas no controle de Escherichia coli e Staphylococcus aureus;
- Avaliar as características físico—químicas dos Queijos Minas Frescal produzidos adicionando os extratos de cascas e amêndoas de manga das variedades Tommy Atkins, Espada e Coquinho;
- Avaliar os efeitos antimicrobianos dos extratos das cascas e das amêndoas adicionados
  na fabricação do queijo Minas Frescal sobre as bactérias Escherichia coli e
  Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes e da Salmonella;
- Comparar a ação antimicrobiana nos queijos adicionados de extrato amêndoa de manga Coquinho, casca de manga Espada, amêndoa de manga Espada e amêndoa de manga Tommy Atkins;
- Verificar a aceitação sensorial dos Queijos Minas Frescal adicionados de extrato de casca de manga Espada, amêndoa de manga Espada e amêndoa de manga Tommy Atkins.

# 3 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

# 3.1 QUEIJO MINAS FRESCAL

O queijo minas frescal pode ser considerado uma variedade de queijo tipicamente brasileira, possuindo ampla aceitação no mercado consumidor e detendo a quarta posição dos queijos mais produzidos no Brasil, sendo superado apenas pelos tipos mozarela, prato e requeijão. A fabricação de queijo minas frescal foi iniciada nas regiões em que as criações de gado de leiteiro predominavam, e era restrita a esses locais. A técnica foi introduzida no país

por imigrantes dinamarqueses e holandeses na região sul de Minas Gerais e Serra da Mantiqueira e foi difundida para o território nacional. A fabricação de queijos, com tecnologia repassada de geração a geração, ainda é muito valorizada por fazer parte da cultura dessas regiões. O queijo minas frescal é um produto de grande popularidade, aceitação, consumo e produção em todo o Brasil. Sua produção representa cerca de 7% do total de queijos fabricados no Brasil sob inspeção federal, sua produção é intensa devido ao alto rendimento e à ausência de período de maturação, o que possibilita um retorno rápido de investimento e, consequentemente, custos menores ao consumidor (VINHA et al, 2010).

As perspectivas para o mercado de queijos são muito promissoras. Segundo o Euromonitor, em 2018, as vendas desse segmento devem atingir R\$ 21,6 bilhões, que corresponde a um crescimento de 30% em relação a 2016. Os brasileiros devem incorporar o queijo no consumo diário e privilegiá-lo por ser considerado um alimento saudável (MALVESTIO; COCO, 2014).

De acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 1997), o queijo minas frescal é 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. Ele é classificado com um queijo semigordo (25 - 44,9% de gordura no extrato seco), de muito alta umidade (não inferior a 55%), a ser consumido fresco, de acordo com a classificação estabelecida no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1996).

Diversas tecnologias são utilizadas na fabricação do queijo minas frescal. A mais tradicional faz uso de fermento láctico, o que fornece ao queijo a proteção promovida pelas bactérias lácticas. Buscando maior rendimento de processo e reduzir as alterações físico-químicas durante sua vida de prateleira, foi desenvolvido o processamento de acidificação direta, com a substituição da cultura láctica pelo ácido láctico industrial. Também vem sendo utilizada a ultrafiltração como tecnologia de produção do queijo minas frescal (KABUKI; SOUZA; KUAYE, 2016).

A adoção de diferentes métodos de fabricação, como a substituição do fermento láctico pela acidificação direta, visando minimizar o problema de acidificação excessiva durante a comercialização, tornou o queijo minas frescal mais susceptível ao desenvolvimento de micro-organismos deteriorantes e patogênicos. O queijo obtido por acidificação direta não conta com barreiras de proteção originadas pela presença do fermento láctico, como a produção de ácido láctico e outros compostos antimicrobianos, dentre os quais, as bacteriocinas.

Outro processo tecnológico em queijos que vem sendo utilizado é a adição de compostos fenólicos com o objetivo de contribuir com o aproveitamento dos antioxidantes naturais e melhorar a qualidade microbiológica dos alimentos. Segundo Moura (2016) a adição de extrato de polpa de açaí, mirtilo e gojiberry, ricos em compostos fenólicos, apresentou alto potencial antioxidante na fabricação de queijo Petit Suisse. Óleos essenciais extraídos de orégano (*Origanum vulgare*) e pimenta do reino preta (*Piper nigrum* L) foram avaliados por Alarcón (2014) quanto a sua capacidade em inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* em queijo ricota, sendo essa capacidade comprovada em ambos os óleos . Outros compostos fenólicos estudados foram provenientes de amêndoas de manga Tommy Atkins adicionadas ao queijo minas frescal contaminado por *Staphylococcus aureus* (SANTOS, 2014).

A composição do queijo Minas Frescal logo após sua fabricação normalmente é 55-60% de umidade, 1,4-1,6% de sal (NaCl), 17-19% de gordura e pH de 5,0-5,3 para queijos fabricados com fermento láctico. No caso dos queijos fabricados com adição direta de ácido láctico, o pH varia entre 6,1-6,3 e a umidade, de 60-63% (SILVA, 2005; CAMPOS, et al., 2006; VINHA et al., 2010).

De acordo com a tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP de 2011 o queijo Minas Frescal apresenta a seguinte composição centesimal (Tabela 1).

**TABELA 1** - Composição Centesimal do Queijo Minas Frescal.

Queijo Minas Frescal	100g
Umidade (%)	56,1
Proteína (g)	17,4
Lipídeo (g)	20,2
Cinzas (g)	3,0
Cálcio (mg)	579
Sódio (mg)	31,0
Potássio (mg)	105

Fonte: adaptado TACO, 2011.

#### 3.1.2 Qualidade do Queijo Minas Frescal

O queijo minas frescal é um produto de massa macia e crua, muito úmido, com baixo teor de sal, baixa acidez e não maturado. Essas características permitem o desenvolvimento de muitos micro-organismos. Alguns, como as bactérias lácticas, utilizam a lactose para

produção de ácido láctico e outros subprodutos, deteriorando o queijo. Outros microorganismos são patogênicos, como *Salmonella* sp, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, os quais podem causar infecções ou intoxicações de origem alimentar (APOLINARIO; SANTOS; LAVARATA, 2014).

O problema da contaminação do queijo minas frescal por microrganismos patogênicos e deterioradores é relatado em alguns trabalhos ao longo dos anos, os quais identificam vários pontos críticos na linha de processamento do queijo, destacando-se a matéria-prima, o tanque de coagulação, a salmoura, a manipulação e a embalagem (ALMEIDA FILHO; NADER FILHO, 2000; BARCELLOS, 2006; SANGALETTI, 2007; FREITAS, 2015).

Para se obter um queijo de qualidade, o principal requisito é o uso da matéria prima de qualidade. Quando o número de contaminantes é elevado no leite cru, a pasteurização e outros processos industriais devem ser capazes da destruição efetiva dos micro-organismos indesejáveis. Além disso, a contaminação do leite pós-pasteurização, a utilização de fermentos inativos, temperaturas inadequadas e incorretas condições de manufatura e armazenamento contribuem, também, de forma efetiva para o comprometimento da qualidade do produto final (FREITAS, 2015).

De acordo com os padrões microbiológicos estabelecidos na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), os queijos de muita alta umidade elaborados por coagulação enzimática, como o Minas Frescal, devem apresentar ausência de *Salmonella* sp e de *Listeria monocytogenes* em 25 g. Além disso, para queijos com presença e ausência de bactérias lácticas é tolerado um número mais provável (NMP)/g de coliformes termotolerantes e de unidades formadoras de colônia (UFC)/g de estafilococos coagulase positiva, valores apresentado na Tabela 2 (BRASIL, 2001).

**TABELA 2 -** Padrões microbiológicos estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária em Queijo Minas Frescal.

Microrganismo	Ausência Bactérias lácticas	Presença Bactérias lácticas
Coliformes a 45°C	$5 \times 10^2 \text{ UFC/gr.}$	$5 \times 10^3 \text{ UFC/gr.}$
Staphylococcus Coagulasses positivo	$5x 10^2$ UFC/gr.	$5x 10^3$ UFC/gr.
Listeria monocytogenes	Ausente	Ausente
Salmonella ssp	Ausente	Ausente

Fonte: BRASIL, 2001.

Segundo Ferreira et al. (2011), a maioria dos queijos comercializados no Brasil não apresentam níveis microbiológicos satisfatórios. Analisando-se a literatura existente a respeito da qualidade microbiológica desses queijos, torna-se evidente o quadro desfavorável da qualidade sanitária deste produto em várias cidades brasileiras, como Poços de Caldas-MG (ALMEIDA FILHO; NADER FILHO, 2000), Cuiabá-MT (LOGUERCIO; ALEIXO, 2001), São Paulo-SP (SILVA et al., 2003), Brasília-DF (BARCELLOS, 2006), Teresina-PI (CASTRO et al., 2007), Arapongas e Londrina-PR (PASSOS et al., 2009) e Zona da Mata-MG (APOLINÁRIO; SANTOS; LAVORATO, 2014).

Queijos Minas Frescal produzidos por diferentes indústrias da região da Zona da Mata Mineira, fiscalizadas por Serviços de Inspeção Federal, Estadual ou Municipal, num total de 31 amostras de queijos Minas Frescal apresentam 77,4% das amostras com contagens superiores ao preconizado pela legislação para coliformes totais, 54,8% para coliformes termotolerantes, 16,12% para estafilococos coagulase positiva e 9,6% para *Listeria monocytogenes*. Nenhuma das amostras apresentou contaminação por *Salmonella* spp. Diante disso, 80,6% das amostras analisadas encontravam-se impróprias para o consumo, por apresentar contagem de pelo menos um dos microrganismos analisados fora dos limites especificados pela legislação (APOLINÁRI; SANTOS; LAVORATO, 2014).

Okura e Marin (2010) analisaram 30 queijos produzidos com leite pasteurizado e inspecionados pelo SIF, 50 queijos produzidos com leite cru sem Inspeção Federal e 31 queijos temperados com especiarias. A presença de coliformes a 45° C acima dos valores permitidos pela legislação ocorreu em 33%, 72% e 39%, respectivamente, sendo identificados vários gêneros pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, sendo a *E. coli* a mais frequente com 77,5%.

Komatsu et al. (2010) avaliaram a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos minas frescal produzidos no município de Uberlândia-MG e determinaram que, de 50 amostras analisadas, 88% estavam fora do padrão estabelecido pelo Ministério da Saúde para esses microrganismos.

Melo e Miguel (2011) analisaram o Queijo Minas Frescal comercializados em Uberaba—MG, e 50% das amostras estavam contaminadas por coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positivas, demonstrando condições higiênico-sanitárias insatisfatórias oferecendo riscos a saúde do consumidor

Devido à susceptibilidade a contaminações, a vida de prateleira do queijo Minas Frescal é relativamente curta, de aproximadamente 14 dias, desde que sob refrigeração adequada, em temperatura não superior a 8°C (BRASIL, 1996). Uma das maneiras de se

prolongar a vida útil do queijo Minas Frescal é realizando estudos sobre utilização de compostos antimicrobianos naturais, como os encontrados nos resíduos de manga (SANTOS, 2014).

#### 3.2 MANGA (MANGIFERA INDICA L.)

A manga é considerada uma importante fruta tropical por seu excelente sabor, aroma e coloração característicos, mas que devido a sua sazonalidade, torna viável sua industrialização, visando a um melhor aproveitamento e diminuição das perdas de produção (BRUNINI; DURIGAN; OLIVEIRA, 2002). Possui grande aceitação no mercado, além de ser rica em vitaminas A, B e C, e quantidade significativa de sais minerais, como cálcio, ferro, potássio, cobre e magnésio (BRAZILIAN FRUIT, 2015).

A produção brasileira de manga em 2013 foi de 1.163.000 toneladas em uma área de plantio de 76.568 hectares (IBGE, 2013; FAO, 2015). No Nordeste brasileiro, a manga é cultivada em todos os estados, em particular nas áreas irrigadas da região semiárida, que apresentam excelentes condições para o desenvolvimento da cultura e obtenção de elevada produtividade e qualidade de frutos. A produção e a consequente industrialização destas frutas vêm sendo um ponto forte na economia desta região, principalmente no estado da Bahia, que desde 2007 ocupa o primeiro lugar de produção de manga no ranking nacional, totalizando 437.919 mil toneladas de manga em 2013 (IBGE, 2013).

O estado de Minas Gerais ocupa a sexta posição entre os principais estados exportadores de manga do Brasil. A manga corresponde a 41% da receita de quase US\$ 1,7 milhão do conjunto de frutas e derivados de Minas no mercado externo e seu potencial econômico consiste na formulação de polpa, néctares, sucos, geleias e compotas (SECRETARIA DE ESTADO DE MINAS GERAIS DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2015).

## 3.2.1 Variedades de Mangas

## 3.2.1.1 Manga Tommy Atkins

A variedade Tommy Atkins originou-se na Flórida, EUA, na década de 1920. Produz fruto com peso médio de 460 g, casca espessa e formato oval. Apresenta coloração da polpa laranja-amarela e casca vermelho-púrpura intensa. A polpa é firme, suculenta, com teor médio de fibra. A polpa é rica em vitaminas A e C. Possuem, ainda, em sua composição niacina e

tiamina, duas vitaminas do complexo B e sais minerais como fósforo segundo Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA, 2015).

A Tommy Atkins é a variedade mais produzida e a que possui a maior participação no volume comercializado no mundo, devido principalmente a sua coloração intensa, produções elevadas e resistência ao transporte a longas distâncias, assim esta variedade possui excelente rendimento industrial por reduzir sensivelmente os custos de processamento durante o preparo, com consequente redução nos custos de produção (COSTA e SANTOS, 2004; BENEVIDES, et al., 2008).

# 3.2.1.2 Manga Espada

A manga espada é uma fruta alongada e achatada dos lados, que madura pode ter coloração amarelo, laranja ou vermelha, sendo mais avermelhada no lado que pega sol diretamente. Quando a fruta ainda não está madura, sua cor é verde. A polpa é suculenta, saborosa, doce e mais fibrosa que outras variedades. Fruta grande, comprida e estreita com a forma aproximada de um S, esverdeada mesmo madura. Resiste bem a longos transportes (EMBRAPA, 2012).

## 3.2.1.3 Manga Coquinho

A manga Coquinho é uma das frutas poliembriônicas mais antigas. É muito produtiva, utilizada para suco, tem aceitação no mercado como manga de mesa e é um dos melhores e mais utilizados porta-enxertos no Brasil (EMBRAPA, 2012).

#### 3.2.2 Residuos da Manga: casca e amêndoa

No processamento industrial para obtenção de polpa de frutas, há geração de resíduos, especialmente cascas, semente e fibras. Aproximadamente 40 a 60% de resíduos são gerados durante o processamento de manga. Destes 12 a 15% consistem em casca e 15 a 20% são amêndoa. De acordo com a variedade de manga, a semente representa de 10 a 25% da massa de toda fruta (MIRGHANI et al., 2009; ABDULLAH et al., 2011). A amêndoa (parte interna do caroço de manga) representa 20% da massa do fruto inteiro, a amêndoa representa de 45 a 75% do caroço (MIRGHANI et al., 2009; ABDULLAH et al., 2011; GADALLAH, FATTACH, 2011; ARBOS et al., 2013).

Tendo em vista que as indústrias de suco processadoras de frutas descartam uma quantidade grande de resíduos (casca e semente), levando subsequentemente à poluição ambiental, têm-se buscado alternativas de reaproveitamento destes resíduos. E uma das

formas de reduzir o impacto ambiental decorrente da disposição destes resíduos consiste na ampliação do seu aproveitamento. Estudos mostram que os resíduos de manga possuem características na sua composição que contribuem para o aumento no interesse para o seu reaproveitamento, a saber: lipídeos, proteínas, compostos fenólicos, fibras, além de possuírem atividade anti-oxidativa e antimicrobiana (BENEVIDES et al., 2008; STRINGHETA; CASTRO, 2008).

Em análises sobre a caracterização da semente de manga, Vieira et al. (2009) observaram que os lipídeos extraídos da amêndoa da semente da apresentam o seguinte perfil de ácidos graxos, sendo 40,81% de oleico, 39,07% de esteárico, 9,29% de palmítico e 6,06% de linoleico. Além disso, dependendo da variedade, a semente de manga pode conter em média 6,0% de proteína em peso seco, 11% de gordura, 77% de carboidratos, 2,0% de fibra bruta e 2,0% de cinzas (SANDHU; LIM, 2007).

A ação antimicrobiana, segundo Abdalla et al. (2007) deve-se ao fato de que a amêndoa da semente de manga apresenta compostos fenólicos, além de lipídeos neutros constituídos por ácidos graxos insaturados. Os compostos fenólicos, terpenos, álcoois alifáticos, aldeídos, cetonas, ácidos e isoflavonóides são os principais componentes antimicrobianos já relatados em plantas (TIWARI et al., 2011).

Arbos, Stevani e Castanha (2013) relataram que os extratos provenientes dos resíduos do processamento industrial de frutos da manga (farinhas da casca e amêndoas) apresentam teor importante de compostos fenólicos, atividade antioxidante e antimicrobiana. Verificaram que o extrato em questão apresentou ação contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e que a concentração inibitória mínima (CMI) do extrato etanólico da semente de manga contra *Escherichia coli; Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium, *Klebsiella aerogenes e Aeromonas hidrophila* foram superiores a 1000 ppm e para *S. aureus, Bacillus sp., Clostridium sp.* e *Listeria monocytogenes* a concentração mínima inibitória variou entre 50-500 ppm. Foi verificado neste estudo que os compostos antimicrobianos presentes na amêndoa da semente de manga são estáveis a altas temperaturas (121°C/15 minutos) e a uma ampla faixa de valores de pH (pH 3-9), sendo constituída 79,5% de polifenóis.

Nesta mesma perspectiva, Abdalla et al. (2007) demonstraram que o extrato metanólico de semente de manga adicionado em diferentes concentrações (3000, 4500 e 6000 ppm) ao leite cru e pasteurizado foi capaz de reduzir a contagem de bactérias mesófilas totais e inibir completamente o desenvolvimento de coliformes, sendo observados halos de inibição bacteriana de 21, 19 e 18 mm para 6000, 4500 e 3000 ppm, respectivamente. O leite controle (sem extrato) e o leite com extrato foram armazenados a temperatura ambiente (25 ± 2 °C)

durante 15 dias, sendo que as amostras de leite controle se deterioraram entre 3 e 6 dias e as amostras com extratos apresentaram uma durabilidade de 15 dias.

A análise da aceitação sensorial do leite pasteurizado contendo extrato também foi realizada, observando-se que não ocorreram alterações significativas no aroma e sabor do leite. Apenas a coloração apresentou diferença passando de amarelo claro para amarelo ligeiramente escuro. Abdalla et al. (2007) relataram a segurança de sementes de manga como aditivos alimentares para estender a vida de prateleira de produtos alimentares.

Em pesquisa realizada por Khammuang e Sarnthima (2011), foi verificada a atividade antibacteriana dos extratos de semente de manga, podendo-se e detectar que os extratos testados (extrato etanólico da semente de manga e extrato fenólico de semente de manga) possuíam atividade antibacteriana, sendo que a cepa mais sensível e fortemente inibida foi a bactéria Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa*.

Em outro estudo, foram testados diferentes solventes: etanol, metanol, acetona e água destilada para a preparação de extratos de sementes de manga, e avaliando quatro espécies bacterianas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtillis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*). Observou-se que as quatro especies apresentaram zona de inibição entre 16 a 23mm em todos os extratos estudados, comprovando o potencial antibacteriano da amêndoa da semente de manga (ABDULLAH; MIRGHANI; JAMAL, 2011).

Santos (2014) utilizou o extrato etanólico (80%) de amêndoa de manga "Tommy Atkins" como antimicrobiano sobre cepas padrão de *Escherichia coli* inoculadas no queijo Minas Frescal. Foram realizados três tratamentos: queijo controle; queijo adicionado do extrato da amêndoa da manga e queijo com embalagem contendo o extrato, sendo analisados em diferentes tempos (0, 5, 10, 15 e 20 dias). Observou-se que, mesmo com uma matéria-prima contaminada, os compostos fenólicos presentes conseguiram inibir o crescimento microbiano.

A amêndoa da semente de manga pode ser incluída na dieta de monogástricos, incluindo seres humanos, sem causar efeitos adversos (ODUNSI, 2005). Na Nigéria, tem sido testado o uso de sua farinha processada em substituição à farinha de trigo na preparação de biscoitos para a alimentação humana (AROGBA, 1999). Entretanto, poucos trabalhos têm sido realizados utilizando-se os compostos fenólicos como ingredientes funcionais ou mesmo bactericidas naturais (BERARDINI; KNÖDLER; SCHEIBER, 2005).

# 4. MATERIAL E MÉTODOS

# 4.1 OBTENÇÃO DA CASCA E DA AMÊNDOA DO FRUTO

Foram adquiridas no comercio da região de Uberaba, MG mangas das variedades Tommy Atkins, Espada e Coquinho, em estágio comercial de maturação, levando-se em consideração a coloração da casca: para a manga da variedade Tommy Atkins apresenta casca rosa avermelhada e para as variedades Espada e Coquinho, uma coloração amarelada. Para todas as variedades foi observada a consistência do fruto, que deveria estar macio, porém firme e a coloração amarelada da polpa. (ASSIS; LIMA, 2008)

A lavagem foi realizada por imersão das mangas em solução de detergente neutro (2,0 mL. L<sup>-1</sup>) por 5 minutos para remoção de sujidades e restos vegetais (MAIA et al. 2009), seguido de água corrente a temperatura ambiente, para remoção do excesso de detergente aderido aos frutos. A sanitização foi realizada por meio de imersão das mangas solução de hipoclorito a 1 mL. L<sup>-1</sup> permanecendo as mangas imersas na solução durante 15 minutos. Após, as mangas foram retiradas para secagem em temperatura ambiente por 10 minutos. O descascamento foi realizado manualmente com facas de aço inoxidável, retirando-se a casca, a polpa e a semente (amêndoa) (Figura 1) (BRASIL, 1999).

FIGURA 1 - Resíduos de manga utilizados: casca e amêndoa.



Fonte: da autora 2017

# 4.2. OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA E DA AMÊNDOA

As cascas e as amêndoas foram submetidas à secagem em estufa (MHTOCIN), a 50°C, por um período de 24 horas. Em seguida, o material foi triturado e submetido à

extração exaustiva a frio. Para isso, foi colocado em recipiente de vidro de 1000 mL, 500g da casca triturada e 900 mL de álcool 70% quantidade suficiente para mantê-los imersos, e em outro recipiente de vidro de 1000 mL, colocado 500g de amêndoa triturada e 900 mL de álcool 70% quantidade suficiente para mantê-los imersos durante sete dias à temperatura ambiente (27°C). Após a extração, o material foi filtrado, e o extrato foi concentrado em rotaevaporador (TE-210 Tecnoal), a 90°C, rotação de 60 rpm e pressão reduzida para obtenção do extrato etanólico e do solvente recuperado, o qual foi utilizado para re-extração por mais duas vezes, tendo se obedecido as condições da extração inicial (BARRETO et al., 2008).

# 4.3 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DOS EXTRATOS

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Cromoline). A curva de calibração foi construída utilizando-se como padrão o ácido gálico (Vetec), 99% de pureza. Preparou-se uma solução estoque de ácido gálico (500mg/L) e a partir desta foram preparadas soluções com concentrações de 0, 50, 100, 150, 250, 500 mg/L. As leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro de absorção UV-Visível (Biospectro SP-22) em comprimento de onda de 765 nm (BERARDINE et al., 2005).

Para a determinação dos compostos fenólicos totais foi utilizada a equação obtida pela curva de calibração do ácido gálico, sendo os resultados expressos em equivalentes de ácido gálico/100g de amostra. As análises foram realizadas em triplicata para cada amostra (BERARDINE et al., 2005).

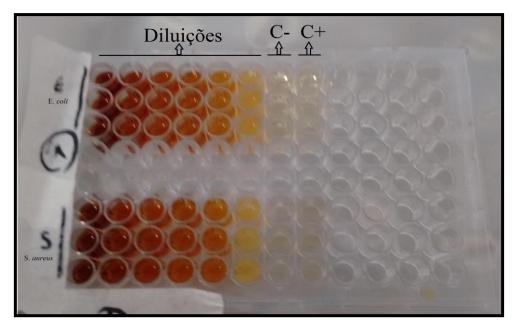
# 4.4 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE EXTRATO, NO CONTROLE DA *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*

Para a avaliação do efeito de diferentes concentrações de extrato foi utilizada a técnica de concentração mínima inibitória (CMI), utilizado o método de diluição em caldo por Microdiluição. (SILVA, 2007).

As placas de Microdiluição contendo o antimicrobiano foram inoculadas com o auxílio de um dispositivo plástico, em cada poço da placa de Microdiluição, utilizaram-se as diluições de 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,5% e 0,78% de extrato de casca e outra placa as mesmas diluições para os extratos de amêndoa de manga. Sendo analisados dois microrganismos por placas (E. *coli* e S. *aureus*), nos poços de A a I foram colocados os extratos em suas diluições juntamente com os microrganismos, no poço J foi o controle

negativo adicionando a Clorexidina 2% e no poço K o controle positivo com caldo BHI e o microrganismo. Os painéis de microdiluição, após a inoculação, foram incubados a 35°C por 24 horas. Após a incubação, a leitura da placa com a determinação da CIM foi realizada visualmente (ANVISA, 2004), de acordo com o exemplo observado na Figura 2.

**FIGURA 2** – Visualização de concentração mínima inibitória de extrato de mangas frente a E. *coli* e S. *aureus*.



Fonte: da autora, 2017.

Para uma melhor visualização da concentração mínima inibitória foi realizada também a técnica do halo de inibição, as mesmas concentrações foram testadas colocando os discos de papel-filtro impregnados nas diferentes soluções de extratos e estes foram colocados na superfície de placas contendo Plate Count Agar (PCA) semeado com o inóculo bacteriano. As placas foram incubadas por a 37°C por 24 horas e medido o mm o halo formado entre o disco e crescimento bacteriano.

# 4.5 PRODUÇÃO DOS QUEIJOS MINAS FRESCAL

Com a finalidade acadêmica e com o objetivo de verificar o efeito do extrato da casca e da amêndoa da manga sobre a *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes* e *Salmollena ssp* foram produzidos queijos com leite cru adquiridos de produtores da região de Uberaba - MG.

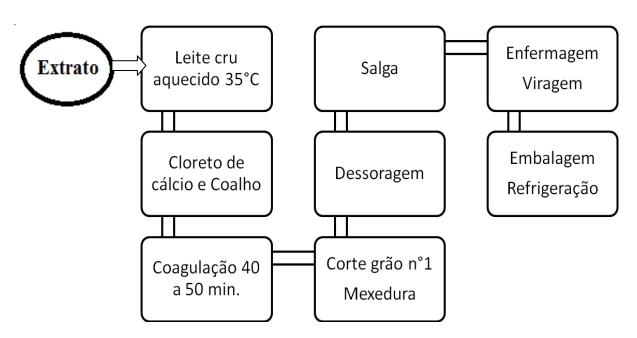
Somente para os ensaios de analise sensorial foram produzidos queijos com leite pasteurizado também adquiridos de produtores da região de Uberaba – MG, para garantir a segurança alimentar dos provadores.

# 4.5.1 Queijo controle

O leite cru (analise microbiológica) e pasteurizado (analise sensorial) foram aquecidos à temperatura de 35° C e acrescidos de cloreto de cálcio a 0,02% (para o leite pasteurizado) dissolvido em água e o coalho liquido de acordo com recomendações do fabricante sobre agitação por 3 minutos.

O leite foi deixado em repouso para o processo de coagulação por 40 a 50 minutos. Em seguida a massa foi cuidadosamente cortada para se obter grãos n°1 (1,5 x 1,5 cm). A coalhada foi deixada em repouso por 3 minutos na sequência realizada a mexedura levemente, parte do soro foi retirada, adicionado o cloreto de sódio a massa foi colocada em formas adequadas de polipropileno no formato cilíndrico que proporciona queijos com 500g a 1000g aproximadamente, após 30 minutos será feito a 1° viragem e após uma hora a 2° viragem os queijos serão mantidos em geladeira sob refrigeração a 8°C, ), observados na Figura 3 (SILVA, 2005).

**FIGURA 3** - Fluxograma do processo de fabricação do Queijo Minas Frescal utilizando leite cru com finalidade acadêmica para realização da analise microbiológica.



Fonte: Adaptado de Silva, (2015).

# 4.5.2. Queijo com o extrato de manga

A fabricação do queijo com o extrato de manga foi produzido da mesma forma que o queijo controle apresentado no item 4.5.1 sendo diferente apenas adicionado o extrato de manga no leite cru aquecido.

Foram produzidos quatro formulações com 6% de extrato sendo elas:

- queijo com extrato de casca de manga Espada
- queijo com extrato de amêndoa de manga Espada
- queijo com extrato de amêndoa de manga Coquinho
- queijo com extrato de amêndoa de manga Tommy Atkins

Esses extratos foram escolhidos para a fabricação do queijo devido aos resultados obtidos na analise de quantidade de compostos fenólicos presente.

Para a analise sensorial foram produzidas novas formulação sendo utilizado o leite pasteurizado para garantir a segurança microbiológica dos provadores.

# 4.6 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As analises físico-química foram realizadas em triplicata no quinto dia pós a fabricação dos queijos sendo nesse período armazenado sobre refrigeração a 8°C. Sendo as analise de umidade, cinza, acidez, pH e proteína realizadas no laboratório de Análise de Alimentos do Instituto de Ciências Tecnológicas e Exatas – ICTE da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, e a analise de lipídio foi realizada no laticínio do Instituto Federal do Triângulo Mineiro IFTM .

#### 4.6.1 Umidade

Para analise de unidade aqueceu-se a cápsula em uma estufa (circulação de ar) a  $102^{\circ}$ C por 1 hora, transferiu-se para o dessecador, esperando-se esfriar até a temperatura ambiente e pesado. Colocou se amostra na cápsula e a pesou novamente. O material foi colocado novamente em estufa a  $102^{\circ}$ C, por 2 horas. Transferiu-se para dessecador esperou esfriar e realizou novamente a pesagem (Instituto Adolfo Lutz, 2008)

#### **4.6.2 Cinzas**

Pesou-se 5g da amostra de queijo na balança analítica, depois carbonizou-se a amostra no bico de Bunsen. Em seguida, colocou-se a amostra na mufla em temperatura ambiente e se foi aumentando a temperatura gradativamente ate a 600°C permanecendo nessa temperatura por uma hora, esperou-se a mufla tingir a temperatura ambiente novamente, as capsulas foram retiradas e colocadas no dessecador e pesados de hora em hora até atingir peso constante para ter o peso final, que são as cinzas, ou seja, resíduo mineral fixo (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

# 4.6.3 Lipídio

Pesou se 2g da amostra homogeneizada diretamente no copo do butirômetro. Acoplou se o copo do butirômetro à parte inferior de forma a ficar bem vedado. Em seguida foi adicionado 10 mL da solução de ácido sulfúrico e 1 mL de álcool isoamílico. O butirômetro foi agitado até dissolver toda a amostra. Quando a amostra apresentou-se dissolvida, retirou se a tampa superior do butirômetro e foi adicionado água até a última marcação deste. Foi centrifugado por 10 minutos a 1200 rpm a porcentagem de gordura foi calculada diretamente na escala do butirômetro (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

## 4.6.4 Proteína

Pesou se 0,2g no tubo de Kjedahl, foi adicionado 2g da mistura catalítica, 5 mL de ácido sulfúrico, colocou—se para digerir no bloco digestor com a chapa a 450°C (BRASIL, 2006).

Foi colocado 15 mL de água destilada no tubo até dissolver a amostra, colocou-se o tubo com a amostra digerida no destilador, acrescentou-se 20 mL de NaOH 40%, com a torneira fechada, foi aberta aos pouco a torneira e deixar escorrer bem lentamente, após foi adicionado 10 mL de ácido bórico 3% em um erlenmeyer de 250 mL com 3 gotas de indicador misto, foi colocado o erlenmeyer com o ácido bórico e indicador no bico do condensador e deixando destilar até a cor verde (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Foi titulado o borato de amônio com solução de ácido clorídrico 0,1N e anotado o volume gasto (BRASIL, 2006).

Para o calculado foi utilizando a formula de conversão de nitrogênio para proteína que consiste em  $(\%) = V \times f \times 0,0014 \times 6,38 \times 100$  (1)

$$P(g)$$
(%) =  $\frac{V \times f \times 0,008755 \times 100}{P(g)}$ 
(2)

Na qual temos:

V = volume gasto de HCl 0,1N

f = fator do HCl 0.1N

0,0014 = miliequivalente grama do nitrogênio

6,38 = fator de conversão geral do nitrogênio em proteína para leite e derivados

P = peso

## 4.6.5 pH

As análises de pH foram realizadas meio de um pHmetro, na qual 50 grs da amostra foi dissolvida em 100ml de agua destilada, filtrada em filtro de papel, o medida com o eletrodo do equipamento pHmetro (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

#### **4.6.6** Acidez

Colocou - se 10 g da amostra em um béquer de 150 mL, acrescentou 50 mL de água morna isenta de gás carbônico (CO<sub>2</sub>) (40°C) e agitou com bastão de vidro até dissolução Transferiu—se quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL, esfriou em água corrente. Transferiu—se uma alíquota de 50 mL para um béquer de 150 mL, foi acrescentado 10 gotas de solução alcoólica de fenolftaleína a 1 % e titular com solução de hidróxido de sódio 0,1 N até leve coloração rósea persistente por aproximadamente 30 segundos (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

## 4.7. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

O queijo foi picado em uma placa de Petri estéril com auxilio de uma faca e colher esterilizadas. Estas amostras foram homogeneizadas e retiradas 25g de cada, colocadas em erlenmeyer, contendo 225 mL água peptonada (Kasvi) a 0,1% (estéril, homogeneizando por 2 min. a amostra considerando este a diluição  $10^{-1}$ ). As análises microbiológicas foram realizadas em triplicata em diferentes tempos (0, 5, 10, 15 e 20 dias) após a produção dos queijos (SILVA et al., 2007; VANDERZANT; SPLITTTOESSER, 1992).

# 4.7.1. Staphylococcus coagulase positiva

Foi pesado 25g de casa amostra em um saco plástico estéril e adicionou-se 225 mL água peptonada (Kasvi) a 0,1%. O saco plástico foi levado ao homogeneizador de amostras por 30 segundos e logo após seguiu-se até a diluição seriada até 10<sup>-3</sup>.

Foram distribuídos 0,1ml de cada diluição (10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> e 10<sup>-3</sup>) em placas de Petri contendo 25 mL de meio de cultura Baird Parker (BP) ágar. A cultura foi espalhada no meio com o auxílio da alça de Drigalsky. Em seguida as placas foram incubadas a 37°C por 24 horas (SANTOS, 2014).

#### 4.7.2. Coliformes a 45°C

Para a determinação de coliformes totais, foi utilizada a técnica de tubos múltiplos pelo número mais provável (NMP/g). Foi realizada a diluição 10<sup>-1</sup>, homogeneizando 25g e queijo com 225 mL de água peptonada ((Kasvi) a 0,1% e das diluições seriadas (10<sup>-2</sup> e 10<sup>-3</sup>), foi semeado 1 mL de cada diluição. O meio utilizado foi água peptonada a 0,1% e incubado a 35°C durante 24 horas. A partir da leitura dos tubos positivos (com crescimento e produção de gás nos tubos de Durham), foi realizada a confirmação com Caldo Verde Brilhante Bile (Brilliant Green Bile Broth) 2% nas mesmas condições de tempo e temperatura preconizados pela *American Public Health Association* – APHA (VANDERZANT e SPLITTTOESSER, 1992).

A determinação do Número Mais Provável de Coliformes Termotolerantes foi realizada utilizando-se a técnica dos tubos múltiplos, com Caldo E*scherichia coli* (EC). Dos tubos positivos para Coliformes totais, foram realizadas as repicagens da cultura, para tubos com Caldo EC (E. C. Broth). Após a semeadura foi incubado a 37°C por 24 horas, em banho maria, com séries de três tubos para cada repicagem (OKURA, 2010).

Após uma calçada dos tubos positivos de Caldo EC, foi estriada na placas e encubada 37°C durante 24h para a confirmação de crescimento da *Escherichia coli* caracterizada pelo crescimento de colônias negras florescentes.

## 4.7.3. Listeria monocytogenes

Para a pesquisa de *Listeria monocytogenes*, foi homogeneizada 25g de cada amostra assepticamente em 225 ml de caldo para enriquecimento de *Listeria* incubadas a 30° C, após 20h a 24 horas alíquotas de 1 mL foram transferidas para tubos com 9 mL de Complete Selective Enrichment Broth suplementado, incubados a 30°C por 24 horas. Com o auxílio de uma alça bacteriológica, fez-se o estriamento para a placa de Petri contendo Ágar Oxford. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas (BRASIL, 2003, SILVA et al., 2007).

#### 4.7.4 Salmonella ssp

Para a pesquisa de *Salmonella*, foi homogeneizada 25g de cada amostra assepticamente em 225 mL de caldo para enriquecimento de *Salmonella* incubadas a 30° C, após 20h a 24 horas alíquotas de 1 mL foram transferidas para tubos com 9 mL de Tetrathionate Broth Base (TT), incubados a 30°C por 20h a 24 horas. Com o auxílio de uma alça bacteriológica, estriamos para a placa de Petri contendo Ágar Xylose Lysine

Deoxycholate (XLD). As placas foram incubadas a 37° C por 24 horas (BRASIL, 2003, adaptada de SILVA et al., 2007).

# 4.8 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial foi aplicada na Universidade Federal do Triângulo Mineiro após ser aprovada pelo Comité de Ética em Pesquisa sobre o numero 2.108.891 (Apêndice A), no laboratório de analise sensorial do Instituto de Ciências Tecnológicas e Exatas, sendo utilizado o teste de aceitação por escala hedônica de 9 pontos que contêm os termos definidos situados, entre "gostei extremamente" e "desgostei extremamente que foi aplicado para 72 provadores não treinados. A ficha de avaliação utilizada pode ser observada na Figura 4.

Para a realização das analises sensoriais foram preparadas novas formulações de queijo Minas Frescal utilizando leite pasteurizado para garantir a segurança dos provadores quanto à contaminação por microrganismos.

Foram preparados um queijo Minas frescal controle (sem o extrato), um com extrato de amêndoa de manga Tommy Atkins, um com extrato de amêndoa de manga Espada e um com extrato de casca de manga Espada (fluxograma item 4.5.1), formulações escolhida mediante melhor desempenho como bactericida observado na análise microbiológica.

Os queijos foram preparados um dia antes da analise e mantidos em embalagens plásticas sob refrigeração a 8°C. No dia da analise as amostras foram picadas em cubos de aproximadamente 25g e servidos em copos descartáveis de 25 mL identificados com codificação numérica de três dígitos aleatórios, as amostras foram servidas simultaneamente.

Os provadores foram orientados a ler e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B), identificar os códigos das amostras na ficha de analise sensorial (Figura 4), provar as amostras na ordem em que foram dispostas na bandeja, tomar água entre uma amostra e outra e colocar a nota de acordo com a pontuação hedônica e para cada atributo (OLIVEIRA, 2010; INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

FIGURA 4 - Modelo de ficha para avaliação sensorial de Queijo Minas Frescal.

Nome:	Idade:	Data:
Você está recebendo quatro amostras codificadas de queijo segundo os atributos citados, utilizando a escala abaixo.	minas frescal	Avalie cada uma
(9) gostei extremamente (8) gostei moderadamente (7) gostei regularmente (6) gostei ligeiramente (5) não gostei, nem desgostei (4) desgostei ligeiramente (3) desgostei regularmente (2) desgostei moderadamente (1) desgostei extremamente		

	Código da Amostra			
Atributos				
COR				
AROMA				
TEXTURA				
SABOR				

Fonte: adaptado de Instituto Adolfo Lutz (2008)

## 4.9 ESTATÍSTICA

O delineamento para o experimento foi em blocos casualizado. Os dados foram analisados por meio da Análise de Variância (teste F) a 5% de probabilidade e uma vez constatados o efeito significativo do tratamento, aplicou-se o teste Tukey, a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa computacional SISVAR, desenvolvido por Ferreira (2000).

# 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

# 5.1 QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A quantidade de compostos fenólicos totais nos extratos de manga variou entre 7,80 mg EAG/100g a 15,53 mg EAG/100g dependendo da variedade da manga dados que podem ser observados na Figura 5. Ambas as amostras apresentam uma diferença significativa, exceto a amêndoa da manga coquinho e a amêndoa da manga apesar de serem variedades diferentes não apresentam diferença na quantidade dos compostos fenólicos.

A quantidade de compostos fenólicos encontrados é superior aos relatados na literatura, sendo que, para amêndoa de manga Tommy Atkins e Santos (2014) relatam valores de 6,281 mg EAG/100g, que foram semelhantes ao encontrados por Sena et al. (2014) que encontraram 6,388 mg EAG/100g pra farinha de manga. Já Arbos et al. (2013) obteve uma quantidade totais nos extratos dos resíduos de manga Tommy Atkins variando de 3,123 a 6,644 mg de catequina/ 100g de resíduo.

15,53 14,85 14,61 13,51 11,25 7,8 Extrato Casca Extrato Casca Extrato Casca Extrato Extrato Extrato Espada **Tommy Atkins** Amêndoa Amêndoa Amêndoa Coquinho Coquinho **Tommy Atkins** Espada ■ Compostos fenólicos toatais EAG/100g

**FIGURA 5** – Quantidade de compostos fenólicos totais presente em extratos de casca e amêndoa de diferentes variedades de manga.

Fonte: da autora, 2017

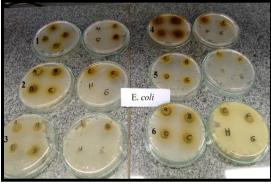
# 5.2 CONCENTRAÇÃO MÍNIMA INIBITÓRIA (CMI) E FORAMÇÃO DO HALO DE INIBIÇÃO

Analisando-se o extrato de manga puro (100%) e nas concentrações de 75%, 50%, 25%, 12,5% 6,25%, 3,12%, 1,5% e 0,78%, observou-se que a *Escherichia coli* (CCCD E003) e *Staphylococus aureus* (CCCD S007) foram sensíveis ao extrato puro (100%) e também a diluição de 6,25%, pois possui halo de inibição com 25mm a 14mm respectivamente, sendo considerado na diluição de 6,25% como bactericida para todas as variedades de mangas analisadas. A partir da diluição de 3,12% foi observado o crescimento de ambas as bactérias resultados que podem ser observados na Figura 6.

Santos (2014) obteve resultados semelhantes para o extrato de amêndoa de manga Tommy de 18,4 mm para a *E. coli* e Arbos, Stevani e Castanha (2013) obtiveram resultados semelhantes, comprovando o efeito do extrato de casca e de amêndoa de manga sobre essas bactérias em diferentes concentrações.

**FIGURA 6 -** Placas com formação do halo de inibição para diferentes diluições de extratos de casca e amêndoa de manga para a inibição do crescimento de S. *aureus* e E. *coli*.





Extratos: 1 – extrato de casca de Coquinho, 2 – extrato de amêndoa de Coquinho, 3- extrato de casca de Espada, 4 – extrato de amêndoa de Espada, 5 – extrato de casca de Tommy Atkins e 6 – extrato de amêndoa de Tommy Atkins.

Fonte: da autora, 2017.

# 5.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Podemos observar na Tabela 3 os valores encontrados nas análises físico-químicas do queijo minas frescal, de acordo com a Portaria nº146 de 07 de março de 1996, os queijos Minas Frescal, foram classificados como sendo de alta umidade (valores entre 46,0 e 51,16%), sendo o queijo controle 46,08%. O queijo com extrato de amêndoa de manga Tommy Atkins não apresentou diferença significativa (p>0,05) em relação ao queijo produzido com extrato de amêndoa de manga Coquinho (46,33%) e com o produzido com extrato de amêndoa de manga Espada (49,50%), esta por sua vez não diferiu do queijo produzido com o extrato de casca de manga Espada (51,16%). O principal efeito da alta umidade em queijos inclui o favorecimento da multiplicação microbiana decorrente da elevada atividade de água no produto.

O percentual de cinzas em todos os tratamentos não apresentou diferença estatística entre si ao nível de 5%. Os queijos minas frescal podem apresentar em média 3,5 a 4,5% de cinzas de acordo com o teor de sal adicionado (ROCHA, 2004). As cinzas ou resíduos minerais participam na formação da coalhada, influenciando na textura do queijo, pois o cálcio e fósforo são os principais elementos da estrutura na coalhada dos queijos (PERRY, 2004).

Quanto ao teor de lipídios, os queijos obtiveram resultados entre 16,10 a 18,43% de gordura, e foram classificados como queijos magros (10,0 e 24,9%), entre as formulações com adição de extrato de casca e amêndoa não foram observadas diferenças significativas ao nível de 5%, mostrando que a adição do extrato não interferiu nas características do produto. Valores semelhantes a este foram encontrados por Rosa (2004) em analise do queijo minas frescal

tradicional (sem adição de extrato). 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.

Os teores de proteínas encontrados foram em torno de 18,68%, não apresentando diferença significativa ao nível de 5% entre as formulações, resultados semelhantes foram encontrados por Silva e Ferreira (2010) que realizaram um estudo onde amostras de queijo minas frescal tradicional variaram de 16 a 22% de proteína.

**TABELA 3 -** Análises físico-químicas de Queijo Minas Frescal fabricados com extrato de casca e amêndoa de manga.

Tratamentos	<b>Umidade %</b>	Cinzas %	Lipídio %	Proteína %
Controle	46.08 <sup>b</sup>	2,71 <sup>ab</sup>	18,43 <sup>a</sup>	18,83 <sup>a</sup>
Extrato Amêndoa Tommy	46.19 <sup>b</sup>	$2,64^{b}$	16,80 <sup>a</sup>	18,33 <sup>a</sup>
Extrato Amêndoa Coquinho	46.33 <sup>b</sup>	$2,65^{b}$	18,16 <sup>a</sup>	19,34 <sup>a</sup>
Extrato Amêndoa Espada	49.50 <sup>ab</sup>	2,74 <sup>a</sup>	17,66 <sup>a</sup>	19,33 <sup>a</sup>
Extrato Casca de Espada	51.16 <sup>a</sup>	2.68 <sup>ab</sup>	$16,10^{a}$	19,00°

Medias seguidas das mesmas letras, na mesma coluna, não apresentaram diferenças significativa de acordo com o teste de tukey a p≤0,05.

Fonte: da autora, 2017

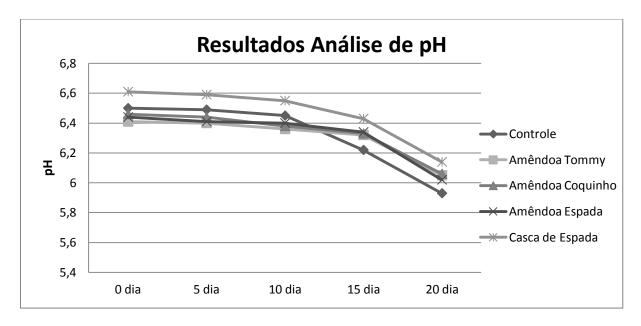
A concentração hidrogeniônica, que determina o pH dos alimentos, é um dos principais fatores que exercem influência sobre o crescimento, a sobrevivência ou a destruição dos microrganismos, que nele se encontram presente (SILVA, 2000).

Os resultados obtidos para o pH dos queijos nos diferentes tempos de análise estão apresentados na Figura 7. Nota-se que os valores de pH oscilaram entre 6,61 a 5,93 ao longo tempo mas, permanecendo dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação que varia entre 6,40 a 5,03. Observa-se que os queijos que continham o extrato de casca ou amêndoa de manga, tiveram uma queda de pH menos acentuada quando comparada ao queijo controle, este fato deve-se ao efeito bacteriostático do extrato sobre os micro-organismos presentes no queijo. Silva et al. (2003) encontraram valores de pH de 6,2 a 5,0 em queijo Minas frescal, valores próximos aos encontrados no queijo em estudo.

Durante o tempo de armazenamento, apesar da queda nos valores de pH, os valores finais não foram tão baixos a ponto de serem considerados um fator limitante para a proliferação das bactérias estudadas. O pH ótimo para a multiplicação das maioria das bactérias é em torno do neutro e a multiplicação destas é deficiente em valores menores que 5,0 (BERESFORD et al., 2001).

Em todos os queijos avaliados o valor do pH diminuiu durante o tempo de armazenamento, porém não ficando abaixo de 5,0

**FIGURA 7** - Resultados da variação do pH dos Queijos Minas Frescal de 0 a 20 dias de armazenamento.



Fonte: da autora, 2017

Na Figura 8 são apresentados os resultados de acidez, onde é verificado o aumento na porcentagem de ácido láctico durante os 20 dias de armazenamento. O aumento da acidez foi de 0,029° ácido láctico até 0,056° de ácido láctico para amostra controle do 0 ao 20° dia respectivamente, já para os queijos adicionados de extrato de casca e amêndoa de manga os resultados encontrados foram em média de 0,024° ate 0,043° de ácido láctico sendo que não houve diferença significativa entre os diferentes tipos de extratos.

A velocidade de formação e quantidade de ácido láctico produzidos influenciam na qualidade do queijo, além de regular o pH e o equilíbrio iônico, que é muito importante na inibição do crescimento de patógenos potenciais (WOLFSCHOON-POMBO, 1984).

O aumento da acidez do queijo está diretamente relacionado com o aumento da população de microrganismos mesófilos, psicrotróficos e principalmente as bactérias láticas, as quais são os principais agentes da transformação da lactose em ácido lático (SANGALETTI, 2009).

Resultados Análise de Acidez 0,07 0,06 0,05 -Controle **Acído Lactico** 0,04 Amêndoa Tommy 0,03 Amêndoa Coquinho 0.02 Amêndoa Espada 0,01 Casaca Espada 0 0 dia 5 dia 10 dia 15 dia 20 dia

**FIGURA 8** – Resultado da Análise de acidez dos Queijos Minas Frescal no decorrer de 20 dias adicionados de extrato de casca e amêndoa de manga.

Fonte: da autora, 2017

A formação do ácido láctico é essencial para o sabor do queijo Minas Frescal, bem como para sua qualidade e vida de prateleira. Entretanto, um excesso na produção de ácido láctico pode conduzir a um sabor muito ácido no queijo e descaracterizar o produto (CASAGRANDE; WOLFSCHOON-POMBO, 1988).

Neste trabalho, observou-se que, nas enumerações dos microrganismos, as populações de bactérias presentes no queijo minas frescal estão diretamente relacionados com os valores obtidos de pH e acidez, uma vez que o aumento dos microrganismos resultou em diminuição dos valores de pH e aumento de acidez. Em estudo conduzido por Sangaletti et al. (2007), os autores observaram uma correlação linear entre o aumento da população dos microrganismos e elevação da acidez.

## 5.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

A contagem de Coliformes a 45°C nos queijos durante os 20 dias de armazenamento estão apresentadas na Tabela 4. De acordo com a Resolução RDC nº 12/2001, o Queijo Minas Frescal deve possuir um limite máximo de 5x10³ UFC/g de Coliformes a 45°C, quanto adicionados de bactérias lácticas, no caso dos queijos produzidos com leite cru para fins acadêmicos essas bactérias já estavam presente (ANVISA, 2001). Observa-se que o queijo controle (sem adição de extrato) obteve um aumento na contagem de microrganismo quando comparado aos queijos com extrato.

Podemos observar que os queijos formulados com o extrato de amêndoa e casca de manga tiveram um crescimento menos acelerado, chegando com 20° dia com uma contagem

inferior ao estabelecido pela legislação RDC nº12/2001, isto se deve ao efeito bacteriostático exercido pelo extrato nas células de coliformes a 45°C.

Santos (2014) realizou um estudo com queijo minas frescal contendo o extrato de amêndoa de manga Tommy Atkins, observando resultados semelhantes na contagem de *Escherichia coli* no decorrer de 20 dias. O queijo com o extrato apresentou boa resistência ao crescimento microbiano durante o armazenamento.

**TABELA 4** – Populações de coliformes a 45°C nos queijos durante os 20 dias de armazenamento para os queijos controle, com extrato de amêndoa Tommy, com extrato de amêndoa coquinho, com extrato de amêndoa espada e com extrato de casca de manga espada.

	Coliformes a 45°C (NMP/g)				
Tratamentos	0 dia	5° dia	10° dia	15° dia	20° dia
Controle	$2x10^{2 \text{ a}}$	$4,2x10^{2a}$	$4,3x10^{2a}$	$1x10^{3a}$	$4,1x10^{3a}$
Extrato Amêndoa Tommy	$9,4x10^{b}$	$1,1x10^{2b}$	$1,1x10^{2b}$	$1,8x10^{2b}$	$4,3x10^{2b}$
Extrato Amêndoa Coquinho	$9,4x10^{b}$	$1,1x10^{2b}$	$1,1x10^{2b}$	$1,8x10^{2b}$	$4,3x10^{2b}$
Extrato Amêndoa Espada	$9,4x10^{b}$	$1,1x10^{2b}$	$1,1x10^{2b}$	$1,8x10^{2b}$	$4,3x10^{2b}$
Extrato Casca de Espada	$9,4x10^{b}$	$1,1x10^{2b}$	$1,1x10^{2b}$	$1,8x10^{2b}$	$4,3x10^{2b}$

Medias seguidas das mesmas letras, na mesma coluna, não apresentaram diferenças significativa de acordo com o teste de tukey a p≤0,05.

Fonte: da autora, 2017

A contagem de *Staphylococus coagulasse positiva* nos queijos durante os 20 dias de armazenamento estão apresentadas na Tabela 5. De acordo com a Resolução RDC nº 12/2001, o Queijo Minas Frescal deve possuir um limite máximo de 5x10³ UFC/g para queijos adicionados de bactérias lácticas, como no caso do queijo produzido com leite cru para fins acadêmicos (ANVISA, 2001). Observa-se que o queijo controle obteve um grande aumento na contagem quando comparado aos queijos com extrato. Pode-se observar que a contagem de todos os queijos extrapolam os limites estabelecidos pela RDC nº12/2001, mas com contagens em dias diferentes, o queijo controle se encontra impróprio para o consumo já no 5º dia com 9,42x10³ UFC/g e os demais queijos no 5º dia com exceção do queijo com e amêndoa de manga Espada que extrapolam o limite somente no 10º dia com 4,08x10³ UFC/g e 6,23x10³ UFC/g respectivamente.

Apesar de a contagem ultrapassar o limite da legislação, podemos notar que os queijos com extrato de casca e amêndoa tiveram um desenvolvimento microbiano menor quando comparado ao queijo controle no decorrer de 20 dias.

**TABELA 5** – Contagem de *Staphylococus* coagulasse positiva nos queijos durante os 20 dias de armazenamento para os queijos controle, com extrato de amêndoa Tommy, com extrato de amêndoa coquinho, com extrato de amêndoa espada e com extrato de casca de manga espada.

	Staphylococus coagulasse positiva (UFC/g)				
Tratamentos	0 dia	5° dia	10° dia	15° dia	20° dia
Controle	$5,82 \times 10^{2a}$	$9,42x10^{3a}$	$5,6x10^{4a}$	$1,51x10^{5a}$	$3,06x10^{5a}$
Extrato Amêndoa Tommy	$4,13x10^{2b}$	$4,97x10^{2b}$	$4,08x10^{3b}$	$6,94x10^{3b}$	$1,34x10^{4b}$
Extrato Amêndoa Coquinho	$4,83x10^{2c}$	$6,08x10^{2c}$	$6,23x10^{3c}$	$7,50x10^{3c}$	$2,06x10^{4c}$
Extrato Amêndoa Espada	$4,29x10^{2b}$	$4,93x10^{2b}$	$6,97x10^{3c}$	$8,47x10^{3d}$	$2,89x10^{4d}$
Extrato Casca de Espada	$4,38x10^{2bc}$	$6,78x10^{2b}$	$5,33x10^{3b}$	$7,19x10^{3c}$	$2,14x10^{4c}$

Medias seguidas das mesmas letras, na mesma coluna, não apresentaram diferenças significativa de acordo com o teste de tukey a  $p \le 0.05$ .

Fonte: da autora, 2017

Para Salmonella e Listeria monocytogenes a legislação RDC n°12/2001 estabelece ausência desses microrganismos no queijo minas frescal, fato esse comprovado para os queijos com extrato de casca e amêndoa de manga que no, decorrer de 20 dias, não foi verificado a presença. Já para a amostra controle se comprovou a presença de ambos os microrganismos no 15° dia e no 20° dia,tornando esse queijo impróprio para o consumo.

Segundo Silva et al., (2003), Kabuki et al., (2004) e Kells; Gilmour, (2004) tem sido cada vez mais comum a presença da *Listeria monocytogenes* e da *Salmonella* em produtos lácteos, em especial no queijo minas frescal. Na indústria de laticínios, as principais vias de introdução desse patógeno são o leite cru, os utensílios e os equipamentos contaminados, o solo carreado pelas botas e roupas dos trabalhadores, o ar, o sistema de ventilação, a água empoçada e/ou condensada e os carros de transporte, além da possibilidade dessa ser carreada por operários ou visitantes doentes (SWAMINATHAN, 2001). Vale ressaltar que algumas cepas desses microrganismos podem permanecer no ambiente de processamento durante meses ou anos. O que torna fundamental a utilização de produtos como o extrato de manga para inibir o desenvolvimento dessas bactérias.

### 5.6 ANÁLISE SENSORIAL

A analise sensoral do queijo contou com 72 provatores não treinados sendo 54,86% do sexo masculino e 45,20% do sexo feminino, com idades entre 18 anos a 54 anos.

Foi obsevado que a amostra controle (sem adição de extrato) apresentou a melhor média de notas em todos os atributos, dados que podem ser obsevados na Tabela 6. Todas as amostras apresentaram uma diferença na coloração, tendo a amostra de queijo com extrato de

casca de Espada recebido a menor nota devido a sua coloração levemente escura em relação as demais. O aroma dessa mesma amostra também apresentou a menor nota. Já a mais aceita pelo provadores, além da amostra controle, foi a amostra com extrato de amêndoa de manga espada.

**TABELA 6 -** Media das notas atribuídas da escala hedonica de 9 pontos, para as diferentes formulções de queijo Minas Frescal e seus atributos pelos provadores na análise sensorial.

Tratamentos	Cor	Aroma	Textura	Sabor
Controle	8,95 <sup>a</sup>	8,42 <sup>a</sup>	8,73 <sup>a</sup>	8,93 <sup>a</sup>
Extrato Amêndoa Tommy	8,81 <sup>b</sup>	8,06 <sup>b</sup>	7,99 <sup>c</sup>	8,43 <sup>b</sup>
Extrato Amêndoa Espada	8,84 <sup>b</sup>	8,23 <sup>a</sup>	8,21 <sup>b</sup>	8,01 <sup>b</sup>
Extrato Casca de Espada	8,68°	7,95 <sup>b</sup>	8,05 <sup>b</sup>	7,08 <sup>c</sup>

Medias seguidas das mesmas letras, na mesma coluna, não apresentaram diferenças significativa de acordo com o teste de tukey a p≤0,05.

Fonte: da autora, 2017

Segundo a textura a amostra de queijo com extrato de amêndoa Tommy apresentou a menor nota 7,99 (gostei moderadamente), seguida do queijo com extrato de casca de espada que, estatiscamente, não se diferenciam entre si. Já as melhores notas foram para o queijo controle com 8,73 e queijo com extrato de amêndoa de espada com 8,21.

Quanto ao sabor, a amostra com extrato de amêndoa de manga Tommy Aktin apresentou melhor nota depois do queijo controle seguida da amostra com extrato de amêndoa de manga espada e com a nota menor o queijo formulado com extrato de casca de espada.

De modo geral todas as amontras tiveram um nota de aceitação alta, monstrando que as diferenças foram pouco percebidas pelos provadores, exceto para a formulação com extrato de casca de manga espada que foi menos aceita .

Conforme os dados encontrados, as notas médias apresentadas para a aceitabilidade geral apresentam nota 9 para o queijo controle, 8,32 para o queijo com extrato de amêndoa de manga Tommy Aktin e extrato de manga Espada, (Figura 8) monstrado que não existe diferenca sigficativa ao nivel de 5% em ambas formulações e 7,94 para queijo com extrato de casca de manga Espada que apresentou a menor aceitação por parte dos provadores.

7,94

Casca Espada

Aceitabilidade Geral

9,5
9
8,5
9
8,32
8,32

Amêndoa Tommy

**FIGURA 9** – Notas da aceitabilidade geral das formulações de Queijo Minas Frescal adicionados de extrato de casca e amêndoa de manga.

Fonte: da autora, 2017

Controle

7,5

Nota

## 6 CONCLUSÃO

Extratos de casca e amêndoas de mangas são potenciasi antimicrobianos naturias para E. *coli* e S. *aures*.

Amêndoa Espada

Na fabriacação de quejo Minas Frescal, o extrato de amêndoa de manga Tommy Aktin, apresentou melhores resultados em relação a qualidade microbiologica e sensorial, mas como já foi relatado no decorrer do trabalho esse tipo de manga é mais utilizado como manga de mesa gerando um residuo domestico.

O queijo produzido com amêndoa de manga Espada também apresentou bons resultados em relação a qualidade microbiologica e sensorial, é um tipo de residuo regerado pelas industrias de suco que pode vim a ser explorado.

O queijo produzido com casca de manga Espada foi o que apresentou um resultado insatisfatorio tanto para a redução da contagem de microrganismo e aceitação sensorial.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLA, A. E. M., DARWISH, S.M., AYAD, E.H.E.; EL-HAMAHMY, R.M. Egyptianmango by product 2: Antioxidant and antimicrobial activities of extract and oil from mango seed kernel. **Food Chemistry**, n. 103, p. 1141-1152, 2007.

ABDULLAH, A. S. H; MIRGHANI, M. E. S; JAMAL, P. Antibacterial activity of Malaysian mango kernel. In: **African Journal of Biotechnology.** Vol. 10 n. 81, p. 18739-18748, 2013.

AGRIDATA. **Tecnologia de fabricação do queijo Minas Frescal** Disponível em: <a href="http://agridata.mg.gov.br/pesquisas/tecnologia\_queijo/patecfa">http://agridata.mg.gov.br/pesquisas/tecnologia\_queijo/patecfa</a> frescal.htm>. Acesso em 21/09/2015.

ALARCÓN, M. M. V. Efeito inibitório dos óleos essenciais no crescimento de Staphylococus aureus e Escherichia coli em queijo ricota. **Dissertação** (Mestrado em Microbiologia Agrícola)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, p. 56, 2007.

ALENCAR, L. A tradição do queijo minas. **Globo Rural**, 2015. Disponível em: < http://revistagloborural.globo.com/Noticias/Cultura/noticia/2015/07/tradicao-do-queijo-minas-artesanal.html> Acesso em: 05/01/2016.

ALMEIDA FILHO, E. S.; NADER FILHO, A. Ocorrência de Staphylococcus aureus em queijo tipo "frescal". **Revista de Saúde Pública**, v. 34, n. 6, p. 578-580, 2000.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Resolução RDC nº 12**, de 02 de janeiro de 2001.Disponível em: <a href="http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect//RDC\_12\_2001.pdf?MOD=AJPERES">http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect//RDC\_12\_2001.pdf?MOD=AJPERES</a>. Acesso em: 23/09/2015.

APHA. American Public Health Association. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 3 ed. Washington: APHA, p. 325-369, 1992.

APOLINÁRIO,T. C.C.; SANTOS, G. S.;LAVORATO, J. A.A. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo minas frescal produzido por laticínios do estado de Minas Gerais. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 6, p. 433-442, Nov/dez, 2014.

ARAGON-ALEGRO, L. C. **Influência dos coliformes no comportamento de** *Listeria monocytogenes* **em queijo Minas frescal**. 2008. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

ARBOS, K.A.; STEVANI, P.C.; CASTANHA, R. F. Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos em casca e amêndoa de frutos de manga. **Revista. Ceres**, Viçosa, v. 60, n.2, p. 161-165, mar/abr., 2013.

AROGBA, S. S. The performance of processed mango (Mangifera indica) kernel fl our in a model food system. **Bioresour. Technol.**, v. 70, n. 3, p. 277-281, 1999.

ASSIS, J. S, LIMA, M.A.C. Produção Integrada de Manga: Manejo Pós-Colheita e Rastreabilidade. EMBRAPA - Circular Técnica 12/2008 – Petrolina – PE. 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJOS – ABIQ. Disponível em: < http://www.abiq.com.br/>.Acesso em: 22/09/2016.

BARCELLOS, T. G. Pesquisa de *E. coli* em queijo minas frescal oriundos de feiras no **Distrito Federal**. 2006. Monografia (Especialização em Qualidade em Alimentos)-Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

BARRETO, J.C.; TREVISAN, M.T.S.; HULL, W.E.; ERBEN, G.; BRITO, E.S. de; PFUNDSTEIN, B.; WURTELE, G.; SPIEGELHALDER, B.; OWEN, R.W. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (Mangifera indica L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.5599-5610, 2008.

BENEVIDES, S.D.; RAMOS, A.M.; STRINGHETA, P. C.; CASTRO, V. C. Qualidade da manga e polpa da manga Ubá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**., Campinas, 28(3): 571-578, jul.-set. 2008.

BERARDINE, N.; FEZER, R.; CONRAD, J.; BEIFUSS, U.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Screening of mango (*Mangifera indica* L.) cultivars for their contents of flavonol Oand xanthone C-glycosides, anthocyanins and pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. n. 53, p.1563-1570, 2005.

BERARDINI, N.; KNÖDLER, A. S.; SCHEIBER, A. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. Innovative. **Food Science and Emerging Technologies**, v. 6, p. 442-452, 2005.

BERESFORD, T. P. et al. Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 259-274, 2001.

BRASIL, Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria Nº 352, de 04 de setembro de 1997. Aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de queijo Minas Frescal. **Diário Oficial da União**, 08/09/1997, seção 1, página 19684.

BRASIL, Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria Nº 146 de 07 de março de 1996. Aprova os regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. **Diário Oficial da União**, 11/03/1996, seção 1, página 3977.

BRASIL. Resolução Portaria nº 6 de 10 de março de 1999 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. Aprova o Regulamento técnico sobre os parâmetros e critérios para o controle higiênico sanitário em estabelecimentos de alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, publicada em 12 de março de 1999.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Instrução Normativa, de 18 de setembro de 2002**. Diário Oficial da União, Brasília, 20/09/2002, seção 1.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para o controle de produtos de origem animal e água. Instrução Normativa 62, de 26 de agosto de 2003. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 set., 2003. Seção I, p.14-50.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 4, de 01 de março de 2004. Altera a Portaria nº 352 de 04/09/1997. **Diário Oficial da União**, 05/03/2004, seção 1, página 5.

BRAZILIAN FRUIT. **Referências nutricionais e dietéticas: Manga**. Disponível em: <a href="http://www.brazilianfruit.org.br/Informacoes\_para\_o\_consumidor/informacoes\_nutricionaismanga.asp?produto=5">http://www.brazilianfruit.org.br/Informacoes\_para\_o\_consumidor/informacoes\_nutricionaismanga.asp?produto=5</a>>. Acesso em: 20/09/2015.

BRUNINI, M. A.; DURIGAN, J. F.; OLIVEIRA, A. L. Avaliação das alterações em polpa de manga 'Tommy-Atkins' congeladas. **Rev. Bras. Frutic**. [online]., v.24, n.3, pp. 651-653. 2002.

CAMPOS, M.R.J.H.; KIPNIS, A.; ANDRÉ, M.C.D.P.B.; VIEIRA, C.A.da. S.; JAYME, L.B., SANTOS, P.P. SERAFINI, A.B. Caracterização fenotípica pelo antibiograma de cepas de *Escherichia coli* isoladas de manipuladores, de leite cru e de queijo "Minas Frescal" em um laticínio de Goiás, Brasil. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.4, p. 1221-1227, jul./ago, 2006.

CARVALHO, J. D. G. Avaliação da qualidade de queijos tipo Minas Frescal elaborados por diferentes processos tecnológicos e comercializados em Campinas-SP. 2003. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) — Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

CASAGRANDE, H. R.; WOLFSCHOON-POMBO, A. F. Fermentação da lactose no queijo Minas Frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 43, n. 258, p.38, 1988

CASTRO, V.S.; NASCIMENTO, V.L.V.; OLIVEIRA, D.S.V.; SOARES, M.J.S.; SILVA, M.J.M. Pesquisa de coliformes e Staphylococcus coagulase positivo em queijo Minas frescal comertcializado em Teresina – PI. In: CONGRESSO DE PESQUISA E INOVAÇÃO DA

REDE NORTE NORDESTE DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA, 2, 2007, João Pessoa. Anais. João Pessoa: CONNEPI, 2007.

CEPEA - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. Anuário 2014/2015. **Brasil Hortifruti**, v. especial, ano 13, n.141, p. 58, 2015.

COELHO, M. C. Isolamento e caracterização de bactérias do ácido láctico, produtoras de bacteriocinas e sua aplicação no fabrico de queijo fresco. (Dissertação de Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar). Angra do Heroísmo: Universidade dos Açores, p.120, 2013.

COSTA, J.G.; SANTOS, C.A.F. Cultivo da mangueira. **Embrapa Semi-Árido: Sistemas de produção.** Versão eletrônica. Jul, 2004. Disponível em: <a href="http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Manga/CultivodaMangueira/cultivodaMang

DIAS, B. F.; FERREIRA, S. M.; CARVALHO, V. S.; SOARES, D. S. B. Qualidade microbiológica e físico-química de queijo minas frescal artesanal e industrial. Revista de Agricultura Neotropical, Cassilândia-MS, v. 3, n. 3, p. 57-64, jul./set. 2016

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Produção Brasileira de manga em 2012**. Disponível em:<a href="http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/Manga\_Brasil\_2012.pdf">http://www.cnpmf.embrapa.br/planilhas/Manga\_Brasil\_2012.pdf</a>>. Acesso em: 21/09/2015.

EMBRAPA GADO DE LEITE. **Estatísticas do Leite**. 2007. Disponível em <a href="http://www.cnpgl.embrapa.br/">http://www.cnpgl.embrapa.br/</a>. Acesso em 20/09/2015.

EMBRAPA. EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA. **Pesquisas melhoram qualidades da manga Tommy Atkins.** 2007. Disponível em: <a href="http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2006/Dezembro/foldernoticia.20070128524290">http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2006/Dezembro/foldernoticia.20070128524290</a> Acesso em 21/09/2015.

FELLOWS, P. **Tecnologia del procesado de los alimentos**: principios y práticas. Zaragoza: Acribia, 1994.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: **Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria**, 45, 2000, São Carlos. Anais. São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.

FERREIRA, R. M; SPINI, J. C. M.; CARRAZZA, L. G.; Santana, D. S.; Oliveira, M. T.; ALVES, L. R.; Carrazza, T. G. Quantificação de coliformes totais e termotolerantes em queijos Minas Frescal artesanal. PUBVET, v. 5, n. 5, art 1022, 2011.

FI. Food Ingredients Brasil. Agentes antimicrobianos químicos e naturais. n. 15, 2010. **Revista FI**. Disponível em: <a href="http://www.revista-fi.com/materias/155.pdf">http://www.revista-fi.com/materias/155.pdf</a>>. Acesso em: 20/09/2015.

**FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION (FAO).** Disponível em:<a href="http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx">http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx</a>. > Acesso em: 20/09/2015.

GADALLAH, M.G.E; FATTACH, A. A. Abdel. The Antibacterial Effect of Mango Seed Kernel Powder in Minced Beef During Refrigerated Storage. Work Journal of duiry & Food Sciences 6 (2): p.219-228, 2011.

HOFFMAN, F. L.; SILVA, J. V.; VINTURIM, T. M. Qualidade microbiológica de queijos tipo "Minas Frescal", vendidos em feiras livres na região de São José do Rio Preto, SP. **Revista Higiene Alimentar**, v. 16, n. 96, p. 69-76, 2002.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção Agrícola Municipal, 2011.** Disponível em: < http://www.ibge.gov.br>. Acesso em 21/09/2015.

INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. **Portaria Nº 818, de 12 de dezembro de 2006.** Regulamento Técnico de Produção do Queijo Minas Artesanal. Belo Horizonte, 2006.

INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. **Portaria nº 523, de 3 de julho de 2002**. Condições Higiênico-Sanitárias e Boas Práticas na Manipulação e Fabricação do queijo Minas Artesanal. Belo Horizonte, 2002.

INSTITUTO DO PATRIMÔNIO HISTÓRICO E ARTÍSTICO NACIONAL (IPHAN). **Queijo artesanal de Minas vira patrimônio cultural**. 16 maio 2008. Disponível em: <a href="http://portal.iphan.gov.br/portal/montarDetalheConteudo.do?id=13927&sigla=Noticia">http://portal.iphan.gov.br/portal/montarDetalheConteudo.do?id=13927&sigla=Noticia</a> &retorno=detalheNoticia>. Acesso em 21/09/2015

KABUKI, D. Y.; KUAYE, A. Y.; WIEDMANN, M.; BOOR, K. J. Molecular subtyping and tracking of *Listeria monocytogenes* in latin-style fresh-cheese processing plants. **Journal of Dairy Science**, Lancaster, v. 87, n. 9, p. 2803-2812, Sept. 2004.

KABUKI, D. Y.; SOUZA, R. M.; KUAYE, A. Y. Bacillus cereus potencialmente enterotoxigênico em queijos minas frescal produzidos por diferentes processos tecnológicos. **Sínteses: Revista Eletrônica do SIMTEC**, n. 2, p. 140-140, 2016.

KELLS, J.; GILMOUR, A. Incidence of *Listeria monocytogenes* in two milk processing environments, and assessment of *Listeria monocytogenes* blood ágar for isolation. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 91, n. 2 p. 167-174, Mar. 2004

KOMATSU, R. S.; RODRIGUES, M. A. M.; LORENO, W. B. N.; SANTOS, K. A.. Ocorrência de Staphylococcus coagulase positiva em queijos Minas Frescal produzidos em Uberlândia – MG. Bioscience Journal, v. 26, n. 2, p. 316-321, 2010.

KHAMMUANG, S.; SARNTHIMA, R.. Antioxidant and antiabacterial activities of selected varieties of Thai mango seed extract. **Pak. J.Pharm Sci,** Vol.24, n.1, January. 2011

LOGUERCIO, E; ALEIXO, J. A. Y. Microbiologia de queijos tipo Minas Frescal produzidos Artesanalmente. **Ciência Hoje**, v. 31, n. 6, p. 1063-1067, 2001.

MAIA, G. A.; SOUSA, P. H. M.; LIMA, A. S.; CARVALHO, J. M.; FIGUEIREDO, R. W. Processamento de frutas tropicais: nutrição, produtos e controle de qualidade. Fortaleza: Editora UFC, p. 277, 2009.

MALLET, A. C. T. Utilização de óleos essenciais de condimentos na conservação de queijos tipo Quark. 2011. 131 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

MALVESTIO, A.; COCO, D. Boas perspectivas no mercado de lácteos: queijos e proteína do soro do leite em alta. **Associação Brasileira das Indústrias de Queijo – ABIQ**, 2014. Disponível em: <a href="http://www.avisulat.com.br/noticiadetalhe.php?id=3277">http://www.avisulat.com.br/noticiadetalhe.php?id=3277</a>> Acesso em: 22/09/2016.

MARTIM, N. S. P. P. Estudo das características de processamento da manga (Mangífera Indica L.) variedade Tommy Atkins desidratada. 2006.75 f. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de tecnologia em alimentos, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

MELO, L. V.; MIGUEL, D. P. Qualidade microbiológica de queijos minas frescal e queijos minas padrão comercializados na cidade de Uberaba –MG. **Cadernos de pós-graduação da Faculdades Associadas de Uberaba** –FAZU. V. 2. e – ISSN 2238-1570. 2011.

Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde. Brasília; 2004. Disponível em:<a href="http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia.asp">http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/microbiologia.asp</a> Acesso em: 30/09/2016.

MIRGHANI, M. E. S.; YOSUF, F.; KABBASHI, N. A.; VEJAYAN, J.; YOSUF, Z. B. M. Antibacterial Activity of Mango Kernel Extracts. **Journal of Applied Sciences., v.** 9 n. 17, p. 3013-3019, 2009.

- MOURA, C. Potencial antioxidante de extratos hidroalcoólicos de mirtilo, polpa de açaí e goji berry: efeito na estabilidade oxidativa e sensorial em queijo petit suisse. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, p. 108, 2016.
- MURDOCK, C.A.; CLEVELAND, J.; MATTHEWS, K.R.; CHIKINDAS, M.L. The synergistic effect of nisin and lactoferrin on the inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 255-261, 2007.
- NASCIMENTO, M. S. Caracterização da atividade antimicrobiana e tecnológica de três culturas bacteriocinogênicas e avaliação de sua eficiência no controle de *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* em queijo Minas Frescal. 2007. **Tese** (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.
- ODUNSI, A.A. Responsive of laying hens and growing broilers to the dietary inclusion of mango (*Mangifera indica L.*) seed kernel meal. **Trop. Anim. Health Prod.**,2005
- OKURA, M. H. Avaliação microbiológica de queijos tipo Minas Frescal comercializados na região do Triângulo. **Tese** (doutorado) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Jaboticabal, 2010.
- OLIVEIRA, A. F., **Análise sensorial dos alimentos**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Londrina, 2010.
- OLIVEIRA, C. A. F.; MORENO, J. F. G.; MESTIERI, L. Características físico-químicas e microbiológicas de queijos Minas Frescal e mussarela, produzidos em algumas fábricas de laticínios do estado de São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**,v. 37, n. 2, p. 139-150, 2005.
- PACHECO A, TALAIA G, SA-PESSOA J, BESSA D, GONCALVES MJ, MOREIRA R, PAIVA S, CASAL M, QUEIROS O. Lactic acid production in Saccharomyces cerevisiae is modulated by expression of the monocarboxylate transporters Jen 1 and Ady 2. **FEMS Yeast Res** v.12, n.3, p.375-381, 2012.
- PAULA, J. C. J.; CARVALHO, A. F.; FURTADO, M. M. Princípios Básicos de Fabricação de Queijos: do histórico a salga. **Revista Indústria Laticínios "Candido Torres"**. Viçosa, v.64, n.367-368, p.19-25, 2009.
- PASSOS, A. D. FERREIRA, G. K. L.; JULIANI, G. L.; SANTANA, E. H. W.; ARAGON-ALEGRO, L. C. Avaliação microbiológica de queijos Minas Frescal comercializados nas cidades de Arapongas e Londrina-PR. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, p. 48-54, 2009.

- PIAZZA, A. C. S.; ROSSI, A. P.; BORTOLUZZI, G. Utilização de infusões de plantas condimentares com atividade antimicrobiana na produção de queijo minas frescal. 2014. 54 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2014.
- PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, v. 27, N° 2, p. 293-300, 2004.
- RESENDE, P. L; CAIXETA, C. M; SANTOS, C. D. M; JACINTO, E. D; ROSSI, D. A. *Salmonella*, colimormes totais e fecais em queijo minas artesanal comercializado em feiras livres de Uberlândia. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO E BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 2., 2005, Búzios. **Anais.** Búzios; CBMVHA, 2005 (Higiene Alimentar encarte eletrônico. 19).
- RIBEIRO, C. R.; BRETANHA, A.; GIACOBBO, C. C; SOUZA, G.; BADIALE-FURLONG, M. M. E. Compostos fenólicos extraídos de fontes naturais aplicados como conservadores em massas de pizza. **Revista de Ciência e Inovação**, v. 1, n. 1, 2016.
- ROCHA, A. M. P. Controle de fungos durante a maturação de queijo minas padrão. **Dissertação** (Mestrado em ciência e Tecnologia de Alimentos PPGCTA) UFSM, Santa Maria, 96 p., 2004.
- ROCHA, J. S.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Condições de processamento e comercialização de queijo de minas frescal. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.** v. 58, n.2, p. 263 272, apr. 2006.
- ROSA, V. P. Efeitos da atmosfera modificada e da irradiação sobre as características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais do queijo Minas frescal. **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. 2004.
- SABIONI, J. G.; HIROOKA, E. Y.; SOUZA, M. L. Intoxicação alimentar por queijo Minas contaminado com *Staphylococcus aureus*. **Revista de Saúde Pública**. v. 22, n. 5, p. 458-461, 1988.
- SANDHU, K.S., LIM, S.T. Structural characteristics and in vitro digestibility of Mango kernel starches (*Mangifera indica L*). **Journal of Food Chemistry.** 2007.
- SANGALETTI, N. **Estudo da vida útil do queijo Minas Frescal disponível no mercado**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2007.
- SANTOS, S. M. Avaliação do efeito antimicrobiano da amêndoa de frutos de manga (*Mangifera indica L.*) no Queijo Minas Frescal. **Trabalho de conclusão de curso** Engenharia de alimentos. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. 2014.

- SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Exportação mineira de manga.** Disponível em: <a href="http://www.agricultura.mg.gov.br.">http://www.agricultura.mg.gov.br.</a> Acesso em: 21 set. 2015.
- SENA, D. N.; OLIVEIRA, A. F. R.; SOUSA, M. M. A.; ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M. Farinha de Resíduos de Processamento de Frutas Tropicais: Determinação dos seus Potenciais Antioxidante. **XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. Florianópolis SC, 2014.
- SILVA, I. M. M.; ALMEIDA, R. C. C.; ALVES, M. A. O.; ALMEIDA, P. F. Occurrence of *Listeria* spp. in critical control points and the environment of Minas Fresh cheese processing. **International Journal of Food Microbiology**, v. 81, p. 241-248, 2003
- SILVA, A.; MASSARA, C. *Ascaris lumbricoides*. In. NEVES, Daniel et al. **Parasitologia humana**. São Paulo, Cap. 29, 253-259. 2005
- SILVA, F. T. Queijo minas frescal / Fernando Teixeira Silva. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2005.
- SILVA, L. F. M.; FERREIRA, K. S. **Avaliação de rotulagem nutricional, composição química e valor energético de queijo Minas frescal, queijo Minas frescal "light" e ricota.** 2010. Disponível em: < http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/1023/a14v21n3>. Acesso em: 08 ago. 2017.
- SILVA, S.; SOUZA, C. Avaliação microbiológica de queijo tipo minas frescal comercializado na cidade de Belém Pará. **Laboratório Central do Estado do** Pará centro Tecnológico da Universidade Federal do Pará, 2006.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S.dos; GOMES, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Livraria Varela, p.552, 2007.
- STATSOFT, INC. **STATISTICA for Windows** [Computer program manual]. Tulsa,OK: StatSoft, Inc. 2000.
- STRINGHETA, P. C.; CASTRO, V. C. Qualidade da manga e polpa da manga Ubá. **Ciênc. Tecnol. Aliment**. v.28, n.3, p.571-578, 2008.
- SWAMINATHAN, B. *Listeria monocytogenes*. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTVILLE, T. J. (Ed.). **Food microbiology**, fundamentals and frontiers. 2nd ed., Washington D. C.: ASM, 2001. chap. 18, p. 383-409.

TIWARI, P.; KUMAR, B.; KAUR, M.; KAUR, G.; KAUR, H. Phytochemical screening and Extraction: A Review. **Internationale Pharmaceutica Sciencia**. v.1, p. 98-106, 2011.

Tabela brasileira de composição de alimentos / NEPA – UNICAMP.- 4. ed. rev. e ampl.-Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011. 161 p.

TODESCATTO, C. Obtenção de fermento lático endógeno para produção de queijo típico da Mesorregião Sudoeste do Paraná. 2014. Dissertação (Programa de PósGraduação em Controle de Processos Químicos e Bioquímicos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, p. 173, 2014.

VALLE, J. L. E. Riscos na produção de queijos e princípios da lavagem e desinfecção de equipamentos. **Revista Leite e Derivados**, v. 21, p. 67-68, 1995.

VANDERZANT, C. e SPLITTSTOESSER, D.F. Compendium for the microbiological examination of foods. 3ed. Washington: American Public Health Association, p. 1219, 1992.

VIEIRA, L, M.; SOUSA, M. S. B.; MANCINI FILHO, J.; LIMA, A. Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, N. 4 p.888-897, 2011.

VIEIRA, P. A. F.; QUEIROZ, J. H.; VIEIRA, B. C.; MENDES, F. Q.; BARBOSA, A. A.; MULLER, E. S.; SANTANA, R. C. O.; MORAES, G. H. K. Caracterização química do resíduo do processamento agroindustrial de manga (*Mangifera indica* L.) var. Ubá. **Alimentos Nutri**. Araraquara. v. 20, n. 4, p. 617-623, 2009.

VINHA, M. B.; PINTO, C. L. O; SOUZA, M. R. M.; CHAVES, J. B. P. Fatores socioeconômicos da produção de queijo Minas Frescal em agroindústrias familiares de Viçosa, MG. **Ciência Rural. Viçosa**, v.40, n.9, p. 2023-2029, 2010.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F. et al. Alterações no queijo Minas Frescal durante o período de armazenamento. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 39, n. 233, p. 3-9, 1984.

# APÊNDICE A – PARECER DO COMITÊ EM ÉTICA E PESQUISA



# UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO - UFTM



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Desenvolvimento de Queijo Minas Frescal acrescido de amêndoa e casca de manga

(Mangifera indica L.)

Pesquisador: Ana Claudia Granato Malpass

Área Temática: Versão: 2

CAAE: 65669617.6.0000.5154

Instituição Proponente: Universidade Federal do Triangulo Mineiro

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.108.891

#### Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P	26/04/2017		Aceito
do Projeto	ROJETO_837681.pdf	20:01:46		
TCLE / Termos de	TCLE_ACGMALPASS_CORRIGIDO.do	26/04/2017	Ana Claudia Granato	Aceito
Assentimento /	cx	19:59:34	Malpass	
Justificativa de				
Ausência				
Projeto Detalhado /	FORMULARIO_CEP_ACGMALPASS.do	26/04/2017	Ana Claudia Granato	Aceito
Brochura	cx	19:59:08	Malpass	
Investigador				
Folha de Rosto	FOLHA_DE_ROSTO_ACGMALPASS_A	13/01/2017	Ana Claudia Granato	Aceito
	SSINADA.pdf	14:42:32	Malpass	

#### Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

UBERABA, 08 de Junho de 2017

Assinado por: Marly Aparecida Spadotto Balarin (Coordenador)

## APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



#### MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO

# UNIVERSIDADE FEDERAL DO TRIÂNGULO MINEIRO – Uberaba – MG

Comitê de Ética em Pesquisa - CEP

Rua Madre Maria José, 122 – 2°. Andar – Bairro Nossa Senhora da Abadia CEP: 38025-100 – Uberaba (MG)

Telefone: (0\*\*34) 3318-5776 - E.mail: cep@pesqpg.uftm.edu.br

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Título do Projeto:** DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO MINAS FRESCAL ACRESCIDO DE AMÊNDOA E CASCA DE MANGA (*MANGIFERA INDICA L.*)

#### TERMO DE ESCLARECIMENTO

Você está sendo convidado (a) a participar do estudo DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO MINAS FRESCAL ACRESCIDO DE AMÊNDOA E CASCA DE MANGA (MANGIFERA INDICA L.). Os avanços na área ocorrem através de estudos como este, por isso a sua participação é importante. O objetivo deste estudo é avaliar o potencial antimicrobiano de casca e/ou amêndoa de manga "Tommy Atkins" no queijo Minas Frescal para eliminar a contaminação desses por microrganismos patógenos. Caso você participe será necessário provar os produtos e responder perguntas sobre os mesmos. Espera-se que o benefício decorrente de sua participação nesta pesquisa seja que a sociedade possa desfrutar de um produto seguro em relação os aspectos microbiológicos, que promova uma maior vida útil do queijo minas frescal.

Caso você concorde em participar, será necessário provar os produtos e responder a um questionário sobre sua opinião sobre os produtos. Não será feito nenhum procedimento que lhe traga qualquer desconforto ou risco à sua vida. Você poderá obter todas as informações que quiser e poderá não participar da pesquisa ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento. Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro, mas terá a garantia de que todas as despesas necessárias

para a realização da pesquisa não serão de sua responsabilidade. Seu nome não aparecerá em qualquer momento do estudo, pois você será identificado com um número.

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE, APÓS ESCLARECIMENTO

#### Título do Projeto:

DESENVOLVIMENTO DE QUEIJO MINAS	S FRESCAL ACRESCIDO DE AMÊNDOA E
CASCA DE MANGA (MANGIFERA INDICA	1 L.)
Eu,	, li
	reendi a finalidade do estudo e sei que não
serei submetido a nenhum procedimento, d	evendo apenas responder a uma entrevista
semiestruturada cujo conteúdo será gravado, se	omente sob minha autorização. Compreendi que
estou livre de riscos, bem como os benefíci	ios do estudo. Eu entendi que sou livre para
interromper minha participação a qualquer mo	omento, sem justificar minha decisão e que isso
não incorrerá em nenhum tipo de problema. S	Sei que meu nome não será divulgado, que não
terei despesas e não receberei dinheiro por par	ticipar do estudo. Assim, EU CONCORDO EM
PARTICIPAR DO ESTUDO.	
Uberaba,//	
Assinatura do voluntário	Documento de Identidade
	Charles Ch. Malpan

Ana Claudia Granato Malpass

Nome do pesquisador responsável

Assinatura do pesquisador responsável

## Telefone de contato do pesquisador responsável:

Ana Claudia Granato Malpass (34) 3331-3000

Em caso de dúvida em relação a esse documento, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro pelo telefone 3318-5776.