Artigo DOI: 10.14295/2238-6416.v73i4.705

DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO, PARTIÇÃO E BIOACESSIBILIDADE DE CÁLCIO EM QUEIJOS MINAS PADRÃO COMERCIAIS

Determination of composition, calcium partition and calcium bioaccessibility in marketed Minas Padrão cheeses

João Pablo Fortes Pereira[1], Náira da Silva Campos[1], Ângela Maria Ferreira de Oliveira[1], Rafael Arromba de Sousa[1], Junio César Jacinto de Paula[2], Paulo Henrique Fonseca da Silva[1]*

RESUMO

Os queijos apresentam destaque entre os derivados lácteos pelos elevados teores lipídico, proteico e mineral. Este trabalho teve como objetivo avaliar doze queijos Minas Padrão comercializados em Juiz de Fora. As análises ocorrerem quando os queijos estavam com intervalo entre 15 dias e 30 dias de fabricação de forma a avaliar os constituintes composicionais de relevância para a classificação no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos, avaliar o potencial hidrogeniônico (pH) e, também, com relação ao teor, distribuição (frações de cálcio total, cálcio na fase aquosa e cálcio livre) e bioacessibilidade do cálcio. Os valores médios encontrados foram: 42,4 ± 3,8 % m/m de umidade; 22,5 ± 1,4 % m/m de proteína; 26,7 ± 1,9% m/m de gordura; 46,3 ± 2,7 % de gordura do extrato seco; 687 ± 86 mg/100g de cálcio total; 482 ± 139 mg/100g de cálcio na fase aquosa; 99,3 ± 10,7 mg/100mL de "cálcio livre"; 37,1 ± 13,5 % de bioacessibilidade de cálcio; 5,14 ± 0,20 de pH. A falta de um regulamento para o queijo Minas Padrão dificulta a caracterização do produto. Em relação ao mineral estudado, a maior parte do cálcio presente no queijo encontra-se na sua fase aquosa, associada aos sais. O teor bioacessível de cálcio nos queijos Minas Padrão comerciais apresenta grande variação, cujas causas são diversas. Este trabalho contribui para a valorização nutricional e para o aperfeiçoamento dos

1 Universidade Federal de Juiz de Fora, Rua José Lourenço Kelmer, s/n, São Pedro, 36036-900, Juiz de Fora, MG, Brasil. E-mail: joaopablo_fp@yahoo.com.br

2 Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, MG, Brasil.

* Autor para correspondência.

Recebido / Received: 31/12/2018
Aprovado / Approved: 30/01/2019

marcos regulatórios de identidade e qualidade do queijo Minas Padrão, por meio da inédita caracterização deste alimento quanto ao teor, a partição entre fases (aquosa e livre) e à bioacessibilidade do cálcio.

Palavras-chave: disponibilidade; qualidade; mineral.

ABSTRACT

Cheeses have a prominent position among dairy products due to their high lipid, protein and mineral content. This work aimed to evaluate twelve Minas Padrão cheeses marketed in Juiz de Fora. The analyzes were carried out when the cheeses were between 15 days and 30 days of manufacture in order to evaluate the composition constituents of relevance for classification in the Technical Regulation of Cheese Identity and Quality, to evaluate the hydrogen ionic potential (pH), calcium distribution (fractions of total calcium, calcium in the aqueous phase and free calcium) and bioaccessibility of calcium. The mean values found were: 42.4 ± 3.8 % w/w moisture; 22.5 ± 1.4 % w/w protein; 26.7 ± 1.9 % w/w of fat; 46.3 ± 2.7 % fat in the dry matter; 687 ± 86 mg/100g of total calcium; 482 ± 139 mg/100g of calcium in the aqueous phase; 99.3 ± 10.7 mg/100 mL of free calcium; 37.1 ± 13.5% of bioaccessibility of calcium; 5.14 ± 0.20 pH value. The lack of a Brazilian regulation for Minas Padrão cheese makes it difficult to characterize the product. In relation to the calcium, most of this mineral present in the cheese is in its aqueous phase, associated with the salts. The bioaccessible content of calcium in commercial Minas Padrão cheeses varies widely, by different causes. This paper contributes to value nutritionally this kind of cheese and present data in order to improve the Technical Regulation of Cheese Identity and Quality he Minas Padrão cheese, through the unprecedented characterization of this food in terms of content, partition between phases (aqueous and free) and bioaccessibility of calcium.

Keywords: disponibility; quality; mineral.

INTRODUÇÃO

O queijo Minas Padrão, bem como diz o nome, teve sua origem no Estado de Minas Gerais, em consequência de problemas legais na comercialização dos queijos ali produzidos e que tinham esta denominação. Surgiu por meio do desenvolvimento tecnológico para atribuir padrão para as muitas variedades de queijos artesanais de expressão regional existentes no Estado, exercida por inúmeros pequenos produtores (MELO et al., 2009).

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA, o queijo Minas Padrão é "o queijo de massa crua ou semicozida obtido por meio da coagulação do leite pasteurizado com coalho ou com outras enzimas coagulantes apropriadas, ou com ambos, complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas, com a obtenção de uma massa coalhada, dessorada, prensada mecanicamente, salgada e maturada" (BRASIL, 2017).

A tecnologia básica do queijo Minas Padrão, segundo Furtado; Lourenço Neto (1994), consiste na pré-fermentação do leite pasteurizado com fermento mesofílico, seguida de coagulação enzimática, sinérese do grão por mexedura e cozimento da massa

até o ponto, pré-prensagem e prensagem do queijo anterior à salga e maturação.

Nesse contexto, variações são encontradas principalmente na questão da escolha do tipo e dose do fermento, retirada de parte do soro e adição de água aquecida após a 1ª mexedura (lavagem da massa) e ponto final do queijo. Estas alterações tecnológicas promovem a falta de padrão nas características do produto.

A composição mineral, especialmente o cálcio, é um requisito bem conhecido que influencia nas propriedades funcionais (derretimento e filagem) e de textura (dureza e elasticidade) de queijos (LUCEY; FOX,1993; LUCEY et al., 2003). Aspectos da forma de apresentação do cálcio no queijo, antes, durante e após a fabricação, é essencial para as características que o queijo apresentará.

O cálcio no queijo pode estar associado a proteínas complexas que formam a estrutura do queijo; pode estar difundido na fase aquosa (FA) da matriz, estando solvatado ou associando-se a íons solúveis. Parâmetros físico-químicos são responsáveis por este equilíbrio entre as formas de apresentação deste mineral e, consequentemente, influenciam diretamente nas características do produto. O principal parâmetro relacionado é o pH. Os efeitos do pH em si são frequentemente difíceis de separar das outras alterações concomitantes, tais como a solubilização de fosfato de cálcio coloidal (FCC), alterações na carga elétrica sobre a caseína, e hidratação das moléculas dessa proteína (HASSAN et al., 2004; DAMODARAN; PARKIN, 2017).

A dissociação do cálcio é dependente do sal ao qual está associado, mas de forma geral, quanto maior o valor de pH do meio, maior é o grau de dissociação de seus sais, que são provenientes de ácidos fracos. No leite (pH 6,7) os sais de cálcio presentes, em quase sua totalidade, estão na forma dissociada. Durante a fabricação do queijo, devido à fermentação e consequente abaixamento do pH, grande parte desses sais passam a estar não dissociados na fase aquosa (FURTADO, 2005).

Em termos nutricionais, o acesso ao cálcio é dependente de variáveis ligadas à alimentação, interação com demais nutrientes, hábitos de vida e também à saúde do organismo. Por outro lado, ao serem avaliadas as fontes de cálcio, geralmente são considerados apenas os seus teores totais e não o quanto realmente está disponível para absorção e execução das funções fisiológicas, ou seja, a bioacessibilidade do nutriente (PEREIRA et al., 2009; KŁOBUKOWSKI et al., 2014).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar queijos Minas Padrão comercializados em Juiz de Fora quanto aos constituintes composicionais de relevância para a classificação no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos – RTIQQ (BRASIL,1996), teor de cálcio, sua distribuição no queijo e a bioacessibilidade do mineral, além dopotencial hidrogeniônico.

MATERIAL E MÉTODOS

Queijos comerciais

Foram adquiridos na cidade de Juiz de Fora, MG, doze marcas comerciais de queijo Minas Padrão. Os produtos apresentavam similaridades quanto à forma, material de embalagem e lista de ingredientes declarados nos rótulos (leite pasteurizado, fermento lácteo, cloreto de sódio, cloreto de cálcio e coagulante). Os queijos comerciais foram analisados quando estavam com intervalo entre 15 dias e 30 dias de fabricação, sendo realizadas três réplicas autênticas de cada marca comercial.

Avaliação da composição dos queijos

A umidade das amostras foi determinada gravimetricamente após secagem em estufa

(marca Nova Ética®) a 105 ºC por 4 horas. As proteínas foram quantificadas pelo método de Kjeldahl (IDF, 1993) com utilização de bloco digestor e destilador de nitrogênio da marca Tecnal®. O conteúdo de lipídios foi determinado pelo emprego do método Gerber (IDF, 2008) por meio do butirômetro (marca Gerber®). A gordura no extrato seco (GES) das amostras foi obtida por cálculo matemático (ZENEBON et al., 2008).

Determinação do potencial hidrogeniônico

A determinação do potencial hidrogeniônico (pH) das amostras foi realizada com auxílio do medidor de pH (marca Gehaka®, modelo PG 1800), calibrado com soluções tampão de 4,00 e 7,00 (AOAC, 2005). As leituras foram determinadas com a imersão direta do eletrodo do equipamento em diferentes pontos do queijo, sendo o eletrodo lavado com água destilada entre as medidas.

Extração da Fase Aquosa

A obtenção das fases aquosas (FA) dos queijos Minas Padrão foi realizada no Laboratório INOVALEITE da Universidade Federal de Viçosa por meio de prensagem mecânica das amostras à temperatura ambiente. As amostras foram preparadas por meio da mistura do queijo triturado com microesferas de vidro com 150 µm a 250 µm de diâmetro durante três horas com pressurização crescente periódica, seguindo metodologia descrita por Salvat-Brunaud et al. (1995). O produto da extração mecânica foi estocado à temperatura de 8 ± 1 ºC. No dia seguinte, os extratos foram centrifugados a 2990 g por 10 minutos e filtrados em algodão, separando o sobrenadante para análises posteriores (FA).

Determinação do "cálcio livre"

A determinação do cálcio livre foi realizada com eletrodo íon seletivo para cálcio, diretamente na FA do queijo, previamente extraída com o Medidor da marca Orion® (modelo 4-Star), com eletrodo íon seletivo para cálcio a 25 ºC. O equipamento foi devidamente calibrado com solução padrão de cálcio nas concentrações de 10 mg/L e 100 mg/L, sendo a leitura realizada diretamente por imersão do eletrodo na FA dos queijos (LEWIS, 2011).

Determinação de cálcio

As amostras de queijos, fases aquosas e digeridos gástricos (provenientes dos ensaios de bioacessibilidade) foram preparadas por decomposição a seco. Para isso, as amostras foram pesadas (precisão de ± 0,0001) em cadinho de porcelana e colocadas em forno de mufla a 550 ºC por 12 h. O resíduo mineral fixo resultante da abertura foi ressuspendido com solução de ácido nítrico 2 % v/v em balão volumétrico de 50,0 mL. Após o preparo, as soluções de amostras foram analisadas quanto ao teor de cálcio empregando-se a Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (FAAS) no Departamento de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora. O equipamento utilizado (Solaar M5, ThermoScientific®) foi operado nas seguintes condições: chama de óxido nitroso – acetileno, na vazão de 4,2 L/min, altura do queimador em 11 mm e comprimento de onda de 422,4 nm. Para a obtenção da curva analítica, utilizou-se soluções padrão de cálcio com concentrações entre 1,0 mg/L e 7,0 mg/L em meio de ácido nítrico 2% v/v, de acordo com a metodologia adaptada de EPA (2007).

Determinação da bioacessibilidade de cálcio

A bioacessibilidade foi determinada de acordo com os procedimentos de Luten et al. (1996), pesando-se 7 g de queijo triturado, em balança analítica (marca Shimadzu®, modelo AY 220) e submetidos à "digestão gástrica" simulada, com solução de pepsina em ácido clorídrico 0,1 mol/L ajustado para pH entre 1,7 a 2,0. A mistura foi colocada em béquer e submetida à agitação, sendo mantida a 37 ºC durante 2 horas.

Após o fim da "digestão gástrica" simulada, determinou-se a acidez do digerido e prepararam-se as membranas de diálises (Spectra/Por® – modelo MWCO: 12.000 D – 14.000 D), as quais foram adicionadas de solução equimolar de bicarbonato de sódio.

As membranas foram usadas para simular a digestão entérica de 30 g do digerido gástrico, colocadas sob agitação em temperatura de 37 ºC por 4 horas. Após a mistura atingir um pH próximo a 5,0 (por volta de 40 minutos), adicionou-se a solução de pancreatina e extrato biliar. No final do período de 4 horas, cada saco de diálise foi removido e o conteúdo foi retirado para determinação do cálcio presente, empregando-se a técnica de FAAS. Para obtenção da fração bioacessível do cálcio, determinou-se, também por FAAS, o teor de cálcio nos queijos, após abertura das amostras e dissolução em ácido nítrico 2% v/v. O percentual de bioacessibilidade para cada amostra é o resultado da relação entre o teor de cálcio encontrado no conteúdo do saco de diálise e o teor de cálcio do queijo.

Interpretação e avaliação dos resultados

A variabilidade dos dados foi avaliada empregando-se análise estatística descritiva com o auxílio do programa estatístico Prism 5.0 (GraphPad, CA, USA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises realizadas para determinar a composição centesimal e a gordura no extrato seco (GES) apresentam importância tecnológica e são usadas, também, para a classificação legal dos queijos, cujos resultados estão apresentados na Tabela 1.

De acordo com os resultados obtidos, o queijo Minas Padrão pode ser classificado, conforme o RTIQQ (BRASIL, 1996), como um queijo de média umidade (entre 36,0 % m/m e 45,9 % m/m) e gordo (GES entre 45,0 % e 59,9 %) por apresentar média de 42,4% m/m de umidade e 46,3 % de GES. Porém, considerando-se os desvios padrões obtidos (± 3,48 % m/m para umidade e ± 2,7 % para GES), percebe-se que o queijo passa a integrar mais de uma faixa do critério de classificação. Pode ser classificado

Tabela 1 – Resultados dos atributos composicionais e GES para os queijos Minas Padrão comerciais

Resultados	Umidade (g/100g)	Proteína (g/100g)	Gorduras Totais (g/100g)	GES (%)	Cálcio Total (mg/100g)
X	42,4	22,5	26,7	46,3	687
DP	3,8	1,4	1,9	2,7	86
Máx	49,4	24,6	30,2	49,5	825
Mín	35,4	20,5	24,2	41,9	504

Sendo, X = média; DP = desvio padrão; Máx = valor máximo; Mín = valor mínimo.

como queijo de média (entre 36,0 % m/m e 45,9 % m/m) a alta umidade (entre 46,0% m/m e 54,9% m/m) e, em relação ao parâmetro GES, pode ser classificado como queijo semigordo (entre 25,0 % e 44,9 %) ou gordo (entre 45,0 % e 59,9 %). A falta de um RTIQ específico para o queijo Minas Padrão favorece a descaracterização do produto pois, legalmente, não existe critério para exclusão de produtos que apresentam divergências composicionais expressivas e que são comercializados sob o nome de queijo Minas Padrão. É o que conclui Brumano et al. (2011) ao avaliar resultados de aspectos físico-químicos do queijo Minas Padrão comercializados ao longo de doze anos. O referido trabalho observou que a umidade dos queijos variou de 43,4 % m/m a 57,4 % m/m e a GES variou de 43,9 % a 70,4 %.

Resultados divergentes dos valores de umidade do presente estudo (48,2 ± 1,24 % m/m) foram encontrados por Paula (2010) ao fabricar queijo Minas Padrão com a tecnologia tradicional, empregada na ocasião como uma condição de controle para aplicação de duas novas tecnologias. Em outro estudo, Silva et al. (2013) avaliaram a composição físico-química de dezenove marcas de queijo Minas Padrão comercializadas no Brasil e encontraram resultados médios de composição centesimal semelhantes ao presente trabalho em termos de umidade (42,7 % m/m), proteína (19,0 % m/m), gorduras totais (28,7 % m/m), e GES (50,0 %). Porém, o pH médio dos queijos apresentou valor superior (5,66).

Em relação ao mineral estudado, vale ressaltar que o teor de cálcio no leite é, tecnologicamente, importante para a formação da estrutura do queijo. Embora a quantidade seja de grande relevância para o aspecto nutricional, é fundamental o conhecimento acerca da partição, pois esta influencia na absorção do mineral pelo organismo humano. Na Tabela 2 são apresentados os atributos da partição do cálcio (cálcio na FA e cálcio livre), bioacessibilidade e pH dos queijos Minas Padrão adquiridos no comércio para o estudo.

Observou-se que, aproximadamente, 70 % do cálcio total presente nos queijos estava disponível em sua FA, na qual, 21 % está disponível como "cálcio livre". Trabalhos semelhantes a este mesmo tipo de queijo não são relatados na literatura, mas estudos com queijos de características distintas já foram realizados. Morris et al. (1988) analisaram a FA de um único tempo de maturação do queijo Cheddar e relataram que 43 % do cálcio estava presente na FA. Lucey; Fox (1993) mencionam que aproximadamente 28 % do cálcio está presente na FA do queijo Cheddar. Guinee et al. (2000) analisaram uma série de amostras de queijo Cheddar comerciais com idade e condições de fabricação desconhecidas e relataram uma variação de 26 % a 44 % no teor de cálcio solúvel frente ao cálcio total. Thierry et al. (1998) informam que a

Tabela 2 – Resultados dos atributos partição de cálcio, bioacessibilidade de cálcio e pH para os queijos Minas Padrão comerciais

Resultados	Cálcio Total (mg/100g)	Cálcio na FA (mg/100g)	Cálcio Livre (mg/100mL FA)	Bioacessibilidade de cálcio (%)	pH queijo
X	687	482	99	37,1	5,14
DP	86	139	11	13,5	0,20
Máx	825	671	117	59,2	5,60
Mín	504	234	83	19,7	4,91

Sendo, X = média; DP = desvio padrão; Máx = valor máximo; Mín = valor mínimo.

proporção de cálcio solúvel no queijo Emmental é de aproximadamente 30 % e que o valor praticamente não mudou durante a maturação. Logo, é possível que mudanças na proporção de cálcio solúvel durante a maturação sejam devido às diferentes condições de fabricação e maturação (HASSAN et al., 2004).

No presente trabalho, a elevada proporção de cálcio encontrado na FA, frente ao cálcio total, pode ser explicado pelo fato de que o Minas Padrão apresenta elevada acidez (pH 5,14), diferentemente do pH médio do queijo Emmental, encontrado por Thierry et. al. (1998), que foi de 5,63. Assim, o pH do queijo Minas favorece a migração do cálcio retido na massa (onde encontra-se ligado a proteínas) para a sua FA, onde permanece na forma de "cálcio livre" ou associado a sais. Ainda em termos comparativos, embora o pH médio do queijo Cheddar seja semelhante ao do Minas Padrão, um aspecto tecnológico pode justificar o reduzido teor de cálcio encontrado na FA do primeiro. A acidificação que ocorre no tanque de fabricação do Cheddar é mais acentuada que na fabricação do Minas Padrão, favorecendo uma sínerese elevada com produção de soro com grande teor do mineral. No queijo Minas Padrão, por sua vez, a acidificação se dá pós tanque de fabricação (LUCEY; FOX, 1993).

Os queijos Minas Padrão comerciais demostraram grande variação na bioacessibilidade do cálcio (desvio padrão de ± 13,5 % com uma amplitude de 39,6 %), apresentando um valor médio de 37,1 %. Fatores de variação na composição não só do queijo como também da matéria-prima, oscilação dos valores de atributos como pH e partição do cálcio, alterações nas condições de armazenamento e comercialização podem influenciar na bioacessibilidade do cálcio e também de outros nutrientes, pois altera a velocidade das reações bioquímicas ocorridas durante a maturação e armazenamento do queijo, podendo disponibilizar ou indisponibilizar o cálcio para a absorção pelo organismo (FOX; MCSWEENEY, 1998).

Por fim, quanto ao pH, os queijos comercializados apresentaram 5,14 como valor médio e um desvio padrão de 0,20. A variação obtida pode ser responsável por alterações consideráveis nas condições físico-químicas e sensoriais do produto, acarretando aos produtos características distintas. Por não ter conhecimento a respeito da tecnologia e condições de maturação e armazenamento dos mesmos, não se pode afirmar sobre os principais fatores que possam ter causado tal variação, contudo estes podem estar associados ao grau de maturação e ao teor de umidade.

CONCLUSÕES

A falta de um Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade específico para o queijo Minas Padrão dificulta a caracterização do produto, pois não há critérios bem definidos que possibilitem tal caracterização.

Em relação ao mineral estudado, a maior parte do cálcio presente no queijo encontra-se na sua fase aquosa, associada aos sais. O teor bioacessível de cálcio nos queijos Minas Padrão comerciais apresenta grande variação, cujas causas são diversas.

Trabalhos semelhantes a este tipo de queijo não são relatados na literatura, embora estudos com queijos de características distintas tenham sido realizados. Dessa forma, este trabalho contribui para a valorização nutricional e para o aperfeiçoamento dos marcos regulatórios de identidade e qualidade do queijo Minas Padrão, devido a inédita caracterização deste queijo quanto ao teor, a partição do cálcio entre as fases (aquosa e livre) e sua bioacessibilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC Official Method 973.41. In: HORWITZ,

W.; LATIMER JR, G. W., editors. **Official methods of analysis of AOAC international.** Gaithersburg, MD, USA: AOAC International, 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Aprovado pelo Decreto nº 9013, de 29 de março de 2017. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2017.

BRUMANO, L. P. et al. Avaliação de aspectos físico-químicos do queijo Minas Padrão comercializados nos últimos 12 anos e suas variações. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLOGIA. **Anais...** Belo Horizonte: EPAMIG, 2011. p. 1-5.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. **Fennema's Food Chemistry.** 5ª ed., Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2017. 1107 p.

EPA – U. S. Environmental Protection Agency, EPA method 7000B: Flame Atomic Absorption Spectrophotometry, rev 2, 2007, 23 p.

FOX P. F., McSWEENEY, P. L. H. (1998). **Dairy chemistry and biochemistry.** 1ª ed., London: Springer, 1998. 478 p.

FURTADO, M. M. **Principais problemas dos queijos: causas e prevenção.** Edição Revisada e Ampliada. São Paulo (SP): Comunicação e Editora, 2005, 200 p.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. M. **Tecnologia de Queijos: Manual técnico para a produção industrial de queijos.** São Paulo: Dipemar, 1994. 118 p.

GUINEE, T. P. et al. The compositional and functional properties of commercial mozzarella, cheddar and analogue pizza cheeses. **International Journal of Dairy Technology.** v. 53, p. 51-56, 2000.

HASSAN, A.; JOHNSON, M. E.; LUCEY, J. A. Changes in the Proportions of Soluble and Insoluble Calcium During the Ripening of Cheddar Cheese. **Journal of Dairy Science.** v. 87, p. 854-862, 2004.

IDF – INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION.IDF 20B: **Determination of milk proteins.** Brussels: IDF, 1993.

IDF– INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. ISO 488 IDF 105: **Milk – Determination of fat content – Gerber butyrometers.** Brussels: IDF, 2008.

KŁOBUKOWSKI, J. A.; SKIBNIEWSKA, K. A.; KOWALSKI, I. M. Calcium bioavailability from dairy products and its release from food by in vitro digestion. **Journal of Elementology.** v. 19, p. 277-288, 2014.

LEWIS, M. J. The measurement and significance of ionic calcium in milk – A review. **International Journal of Dairy Technology.** v. 64, p. 1-13, 2011.

LUCEY J. A.; FOX, P. F. Importance of Calcium and Phosphate in Cheese Manufacture: A Review. **Journal of Dairy Science.** v. 76, p. 1714-1724, 1993.

LUCEY, J. A.; JOHNSON, M. E.; HORNE, D. S. Perspectives on the Basis of the Rheology and Texture Properties of Cheese. **Journal of Dairy Science.** v. 86, p. 2725-2743, 2003.

LUTEN, J. et al. Interlaboratory trial on the determination of the in vitro iron dialysability from food. **Journal of the Science of Food and Agriculture.** v. 72, p. 415-424, 1996.

MELO, A. C. M.; ALVES, L. M. C.; COSTA, F. N. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo tipo Minas Padrão comercializado na Cidade de São Luís, MA. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 4, p. 547-551, 2009.

MORRIS, H. A. et al. Inorganic constituents of cheese: analysis of juice from a one-month-old Cheddar cheese and the use of light and electron microscopy to characterize the crystalline phases. **Journal of Dairy Research**, n. 55, v. 2, p. 255-268, 1988.

PAULA, J. C. J. **Efeito do uso de dióxido de carbono (CO2) na fabricação de queijos Minas Frescal e Minas Padrão.** 2010. 120f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

PEREIRA, G. A. P. et al. A. dietary calcium – strategies to optimize intake. **Revista Brasileira de Reumatologia.** v. 49, p. 164-180, 2009.

SALVAT-BRUNAUD, D. et al. Extraction et analyse de la phase aqueuse de l'emmental à 4 stades d'affinage. **Lait**, v. 75, p. 239-249, 1995.

SILVA M. D. S. et al. Composição físico-química de queijo Minas Padrão comercializado no Brasil. In: II SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA JÚNIOR DA ZONA DA MATA MINEIRA. **Anais...** Juiz de Fora: IF-Sudeste, 2013.

THIERRY, A. et al. Affinage de l'emmental: dynamique des populations bactériennes et évolution de la composition de la phase aqueuse. **Lait**, v. 78, p. 521-54, 1998.

ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4ª Ed e,1ª Ed digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.