

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC**  
**CENTRO DE EDUCAÇÃO SUPERIOR DO OESTE – CEO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA – PPGZOO**

**CRISTINA BACHMANN DA SILVA**

**ANÁLISE SENSORIAL DE LÁCTEOS E MICROBIOMA DE QUEIJOS COLONIAIS**  
**FABRICADOS A PARTIR DE LEITE DE VACAS JERSEY ALIMENTADAS OU**  
**NÃO COM ÓLEOS ESSENCIAIS**

**CHAPECÓ**

**2024**

**CRISTINA BACHMANN DA SILVA**

**ANÁLISE SENSORIAL DE LÁCTEOS E MICROBIOMA DE QUEIJOS COLONIAIS  
FABRICADOS A PARTIR DE LEITE DE VACAS JERSEY ALIMENTADAS OU  
NÃO COM ÓLEOS ESSENCIAIS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.  
Orientadora: Prof. Dra. Aline Zampar  
Coorientadora: Prof. Dra. Creciana Maria Endres

**CHAPECÓ**

**2024**

da Silva, Cristina Bachmann

Análise sensorial de lácteos e microbioma de queijos coloniais fabricados a partir de leite de vacas Jersey alimentadas ou não com óleos essenciais / Cristina Bachmann da Silva. -- 2024.

96 p.

Orientadora: Aline Zampar

Coorientadora: Creciana Maria Endres

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Chapecó, 2024.

1. Bovinocultura leiteira. 2. Derivados lácteos. 3. Óleos essenciais. 4. Queijo colonial. 5. Microbioma. I. Zampar, Aline . II. Endres, Creciana Maria. III. Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Educação Superior do Oeste, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. IV. Título.

**CRISTINA BACHMANN DA SILVA**

**ANÁLISE SENSORIAL DE LÁCTEOS E MICROBIOMA DE QUEIJOS COLONIAIS  
FABRICADOS A PARTIR DE LEITE DE VACAS JERSEY ALIMENTADAS OU  
NÃO COM ÓLEOS ESSENCIAIS**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC.  
Orientadora: Prof. Dra. Aline Zampar.  
Coorientadora: Prof. Dra. Creciana Maria Endres

**BANCA EXAMINADORA**

Membros:

Aline Zampar, Dra.  
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

Paula Montagner, Dra.  
Universidade Federal de Santa Maria – UFSM

Denise Nunes de Araújo, Dra.  
Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC

Chapecó, 09 de agosto de 2024.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer à Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC, por proporcionar a realização e execução do presente trabalho para obtenção do título de mestre em Zootecnia.

À Professora Dra. Aline Zampar, à professora Dra. Ana Luiza Bachmann Schogor, à professora Dra. Creciana Maria Endres e a Dra. Bruna Klein que me orientaram para execução deste projeto, auxiliando sempre para que a ciência cada vez mais tenha espaço em nossa realidade. Da mesma forma agradeço aos colegas Aline Luisa do Nascimento, Cleiton Melek e Lucas Bavaresco pelo auxílio, cada um a seu modo, vocês foram indispensáveis. A todos os amigos e professores que contribuíram diretamente e indiretamente ao longo do curso.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. À FAPESC pelo auxílio financeiro (Edital N. 30/2022, TR 2030).

Em especial a professora Alline Artigiani Lima Tribst (UNICAMP) pela ajuda durante a formulação e análise dos dados dos testes sensoriais realizados durante a execução da proposta. Também a Granja Bavaresco pela disponibilidade das instalações e animais, atendendo prontamente e de maneira exemplar as nossas necessidades enquanto pesquisadores. A Casa Bianchi por toda ajuda dispensada no momento crucial de produção dos queijos tipo colonial, seu apoio foi indispensável para a qualidade do produto final, e sem ela os resultados certamente não seriam os mesmos.

E a minha família, em especial as minhas filhas, que se mantiveram ao meu lado nos momentos de desafio.

## RESUMO

Este estudo avaliou o leite, creme de leite e queijo colonial produzidos a partir de leite de vacas suplementadas ou não com óleos essenciais (OE) de eucalipto (126 g/kg) e menta (87 g/kg), testando a hipótese de que esses produtos aromáticos, embora benéficos para a saúde animal, não seriam incorporados nos lácteos. Um total de 40 vacas em lactação foi dividido em dois grupos de 20, com o grupo tratado recebendo 3,6 ml de OE por vaca ao dia e o grupo controle não recebendo a suplementação. O delineamento foi inteiramente casualizado, com 14 dias de adaptação e 17 dias de coleta de leite. Nos dias 15 e 16, o leite foi usado para produção de queijo colonial, com maturação monitorada aos 7, 20, 45 e 60 dias (para análise do microbioma). Nos dias 20 e 21, o leite foi destinado à produção de creme de leite, que passou por análise sensorial, e nos dias 30 e 31 houve nova coleta para análise do leite. As análises físico-químicas e microbiológicas mostraram que os produtos atendiam aos padrões legais, sem diferença significativa na composição entre os grupos. O teor de gordura no queijo variou de 28,0% a 33,5% (controle) e de 28,5% a 34,0% (tratado), enquanto a umidade oscilou entre 35,61% e 47,34% (controle) e entre 34,50% e 46,74% (tratado). Em relação ao TBARS (indicador de oxidação lipídica), houve menor oxidação no queijo tratado aos 45 dias ( $p < 0,05$ ). Dentre os ácidos graxos, o tratamento com OE resultou em aumento dos saturados e redução dos insaturados ( $p < 0,05$ ). No teste sensorial CATA, com 120 avaliadores, o leite do grupo tratado foi descrito como mais doce ( $p = 0,004$ ), menos aguado ( $p = 0,040$ ) e mais opaco ( $p = 0,071$ ). O creme de leite mostrou semelhanças para a maioria dos atributos, e os queijos aos 20 e 45 dias foram percebidos como similares, embora o queijo do grupo tratado, aos 45 dias, fosse descrito como mais gorduroso (15% vs. 8%,  $p = 0,021$ ) e picante (10% vs. 4%,  $p = 0,035$ ), mesmo que esses atributos tenham sido pouco citados ( $<15\%$ ). Não houve diferença no microbioma dos queijos entre os grupos, porém observou-se menor contagem de patógenos no grupo tratado, possivelmente pela ação antimicrobiana dos OE. Conclui-se que, embora o tratamento com OE tenha gerado alterações no perfil de oxidação lipídica e ácidos graxos, não afetou as características organolépticas a ponto de inviabilizar o consumo dos produtos. Houve uma redução na presença de microrganismos patogênicos no grupo tratado, sugerindo um efeito antimicrobiano seletivo dos OE sem afetar os fermentos lácteos ou a maturação dos queijos, o que poderia contribuir para a segurança microbiológica dos lácteos.

**Palavras-chave:** Bovinocultura leiteira; Derivados lácteos; Óleos essenciais; Microbioma.

## ABSTRACT

This study evaluated milk, cream, and colonial cheese produced from cows supplemented or not with essential oils (EO) of eucalyptus (126 g/kg) and mint (87 g/kg), testing the hypothesis that, although beneficial to animal health, these aromatic products would not be incorporated into dairy products. Forty lactating cows were divided into two groups of 20, with the treated group receiving 3.6 ml of EO per cow per day and the control group receiving no supplementation. A completely randomized design was applied, with 14 days of adaptation and 17 days of milk collection. On days 15 and 16, the milk was used to produce colonial cheese, with maturation monitored at 7, 20, 45, and 60 days (for microbiome analysis). On days 20 and 21, the milk was processed into cream, which was evaluated for sensory properties, and on days 30 and 31, milk was collected again for sensory analysis. Physicochemical and microbiological analyses showed that all products met legal standards, with no significant compositional differences between groups. Fat content in the cheese ranged from 28.0% to 33.5% (control) and from 28.5% to 34.0% (treated), while moisture varied between 35.61% and 47.34% (control) and between 34.50% and 46.74% (treated). For TBARS (a lipid oxidation indicator), the treated cheese showed lower oxidation at 45 days ( $p < 0.05$ ). Among fatty acids, EO treatment increased saturated fatty acids and reduced unsaturated fatty acids ( $p < 0.05$ ). In the CATA sensory test, conducted with 120 untrained evaluators, the milk from the treated group was described as sweeter ( $p = 0.004$ ), less watery ( $p = 0.040$ ), and more opaque ( $p = 0.071$ ). The cream exhibited similarities in most attributes, and cheeses at 20 and 45 days were perceived as similar, although the 45-day aged cheese from the treated group was described as greasier (15% vs. 8%,  $p = 0.021$ ) and spicier (10% vs. 4%,  $p = 0.035$ ), though these attributes were cited by fewer than 15% of participants. No difference was found in the cheese microbiome between groups; however, the treated group showed a lower count of pathogenic microorganisms, possibly due to the antimicrobial action of EO. We conclude that, while EO treatment altered lipid oxidation and fatty acid profiles, it did not affect the organoleptic characteristics enough to impair the products' consumer viability. A reduction in pathogenic microorganisms in the treated group indicates a selective antimicrobial effect of EO, which did not affect dairy starters or cheese maturation, potentially contributing to the microbiological safety of dairy products.

**Keywords:** Dairy cattle farming; Dairy products; Essential oils; Microbiome.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Antioxidantes naturais importantes na menta . A: $\alpha$ -terpineno; B: ácido rosmarínico; C: ácido cafeico; D: eriocitrina; E: luteolina .....	29
Figura 2 - Estruturas químicas do óleo essencial de eucalipto.....	30
Figura 3 - Esquema simplificado da produção do queijo.....	33
Figura 4 - Representação da abundância relativa de táxons bacterianos com base no sequenciamento do gene 16S rRNA no nível de gênero em amostras de leite controle e tratado. As barras verticais indicam a abundância relativa média de sequências bacterianas nas amostras A (Filo) e B (Gênero). As strings que não puderam ser atribuídas são coloridas em laranja e rotuladas como “desconhecidas” .....	47
Figura 5 - Métricas de diversidade alfa com amostras de leite controle e tratado. Riqueza medida pelo índice Chao1 (A), pelo índice Shannon (B).....	48
Figura 6 - Métricas de diversidade beta com amostras de leite controle e tratado. Bray-Curtis (A), pelo Unifrac (B).....	49
Figura 7 - Log2 fold-change: proporção de abundância diferencial ao nível de família (A), e Gênero (B) em amostras de queijo produzidas com leite controle (azul) em comparação com queijos produzidos com leite tratado adicionado de óleos essenciais (laranja).....	50
Figura 8 - Log2 fold-change: proporção de abundância diferencial ao nível de gênero em amostras de queijo produzidas com leite controle (azul) em comparação com queijos produzidos com leite tratado adicionado de óleos essenciais (laranja).....	50



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produção de leite sob inspeção no Brasil, por regiões e principais estados produtores no ano de 2021 - Em mil litros.....	18
Tabela 2 - Padrões microbiológicos para alimentos de acordo com a IN 161 de 2022.....	19
Tabela 3 - Maiores produtores mundiais de queijo no ano de 2021.....	21
Tabela 4 - Valores descritivos das análises físico-químicas e microbiológicas do leite e do creme de leite obtidos de vacas Jersey alimentadas ou não com óleos essenciais à base de eucalipto e menta.....	40
Tabela 5 - Valores descritivos das análises físico-químicas e microbiológicas do queijo colonial obtido a partir do leite de vacas Jersey alimentadas ou não com óleos essenciais à base de eucalipto e menta, aos 7, 21 e 45 dias de maturação.....	41
Tabela 6 - Valores descritivos das análises microbiológicas do queijo colonial obtido a partir do leite de vacas Jersey alimentadas ou não com óleos essenciais à base de eucalipto e menta, aos 7, 20 e 45 dias de maturação.....	41
Tabela 7 - TBARS do queijo colonial obtido a partir do leite de vacas Jersey alimentadas ou não com óleos essenciais à base de eucalipto e menta, aos 7, 20 e 45 dias de maturação.....	42
Tabela 8 - Perfil de ácidos graxos do queijo colonial obtido a partir do leite de vacas Jersey alimentadas ou não com óleos essenciais à base de eucalipto e menta, aos 7, 21, 45 e 60 dias de maturação.....	43
Tabela 9 - Teste CATA para leite e creme de leite.....	52
Tabela 10 - Teste de Cochran para cada atributo (TESTE CATA) Dias 20 e 45 de maturação.....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIQ	Associação Brasileira Das Indústrias De Queijo
AFNOR	Associação Francesa de Normalização
AG	Ácido Graxo
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ANOVA	Análise de Variância
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
BAL	Bactérias do Ácido Lático
C	Carbono
CATA	Check-All-That-Apply
CCS	Contagem de Células Somáticas
cm <sup>3</sup>	Cebtímetros cúbicos
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
COV	Compostos Orgânicos Voláteis
CPP	Contagem Padrão em Placas
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
ESD	Extrato Seco Desengordurado
EUA	Estados Unidos da América
FAMA	Ésteres Metílicos De Ácidos Graxos
FAO	Organização das Nações Unidas Para a Alimentação e a Agricultura
FAOSTAT	Banco de Dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
FDA	Food and Drug Administration
FID	Detector de Ionização de Chama
g/cm <sup>3</sup>	Gramas por Centímetro Cúbico
h	Hora
HT	Sequenciamento de Alto Rendimento
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido Sulfúrico
IAL	Instituto Adolfo Lutz
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IN	Instrução Normativa
ISO	Internacional Organization for Standardization
Kg	Quilo Gramas
KOH	Hidróxido De Potássio
LINA	Leite Instável Não Ácido
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
MUFA	Ácidos graxos monoinsaturados
ml	Mililitro
NMKL	Nordic-Baltic Committee on Food Analysis
OD	Densidade Óptica
OE	Óleo Essencial
OMA	Official Methods of Analysis
OTU's	Unidades Taxonômicas Operacionais
PCoA	Análise de Coordenadas Principais
PCR	Reação em Cadeia Polimerase
PERMANOVA	Análise de Variância Multivariada de Permutação
RPM	Rotações por Minuto
RNA	Ácido Ribonucleico
rRNA	Ácido Ribonucleico Ribossômico
SENAI	Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial
SFA	Ácidos Graxos Saturados
TBARS	Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico
TCA	Solução de Ácido Tricloroacético
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TMR	Ração Total Misturada
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
UFA	Ácidos graxos insaturados
UniSenai	Centros Universitários e Faculdades do Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial
μl	Microlitro
μg	Micrograma
°C	Graus Celsius

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>17</b>
2.1	PRODUÇÃO DE LEITE E DERIVADOS.....	17
2.1.1	<i>Leite.....</i>	<i>17</i>
2.1.2	<i>Creme de leite.....</i>	<i>20</i>
2.1.3	<i>Queijo Colonial.....</i>	<i>21</i>
2.2	DIVERSIDADE DAS COMUNIDADES MICROBIANAS NO LEITE E QUEIJO COLONIA.....	23
2.3	ÓLEOS ESSENCIAIS.....	25
2.3.1	<i>Uso dos óleos essenciais.....</i>	<i>26</i>
2.4	ÓLEO ESSENCIAIS DE MENTA E EUCALIPTO.....	28
2.4.1	<i>Óleo Essencial de Menta.....</i>	<i>29</i>
2.4.2	<i>Óleo Essencial de Eucalipto.....</i>	<i>30</i>
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>31</b>
3.1	ANIMAIS, TRATAMENTO E OBTENÇÃO DO LEITE.....	32
3.2	AVALIAÇÃO SENSORIAL DE LEITE, CREME DE LEITE E QUEIJO COLONIAL PRODUZIDOS COM LEITE DE ANIMAIS COM RAÇÃO SUPLEMENTADA.....	35
3.3	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	36
3.3.1	<i>Análise estatística TBARS e ácidos graxos.....</i>	<i>37</i>
3.3.2	<i>Análise estatística do teste sensorial.....</i>	<i>37</i>
3.4	MICROBIOMA.....	37
3.4.1	<i>Processamento de amostra, extração de DNA e Preparação de biblioteca e sequenciamento de 16S Rrna.....</i>	<i>37</i>
3.4.2	<i>Análise de Bioinformática.....</i>	<i>38</i>
3.4.3	<i>Análise estatística microbioma.....</i>	<i>38</i>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>39</b>
4.1	RESULTADOS DE ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS.....	39
4.2	RESULTADOS MICROBIOMA.....	48
4.2.1	<i>Alpha Diversidade.....</i>	<i>49</i>
4.2.2	<i>Beta Diversidade.....</i>	<i>50</i>
4.2.3	<i>Abundância diferencial.....</i>	<i>50</i>

4.3	RESULTADOS ANÁLISES SENSORIAIS.....	51
4.3.1	<i>Leite</i> .....	51
4.3.2	<i>Creme de Leite</i> .....	52
4.3.3	<i>Queijo Colonial</i> .....	54
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	56
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	67
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	69
	<b>APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO CATA PARA LEITE</b> .....	87
	<b>APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO CATA PARA CREME DE LEITE</b> .....	88
	<b>APÊNDICE C - QUESTIONÁRIO CATA PARA QUEIJO COLONIAL</b> .....	89
	<b>APÊNDICE D - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b> .....	90
	<b>ANEXO A - LEI Nº 18.250, DE 10 DE NOVEMBRO DE 2021</b> .....	91
	<b>ANEXO B - LEI Nº 13.860, DE 18 DE JULHO DE 2019</b> .....	95
	<b>ANEXO C - CERTIFICADO DE APROVAÇÃO NO CEUA</b> .....	97
	<b>ANEXO D - CERTIFICADO DE APROVAÇÃO NO CEUA – EMENDA</b> .....	98

## 1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva do leite tem grande importância econômica e social no mundo todo. No Brasil, tem ampla importância na geração de empregos no campo, nas indústrias, assistência técnica e comercialização de produtos. Com a publicação das Instruções Normativas número 76 e 77 de 2018 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), houve uma rápida e necessária adequação dos parâmetros de qualidade para produtos lácteos. Dentre estes, destacam-se o limite mínimo dos componentes do leite, como a contagem de células somáticas (CCS), a contagem padrão em placas (CPP), bem como as indicações relacionadas às temperaturas de estocagem e transporte, que estão mais rigorosas. Com isso, ocorre maior destinação de leite de menor qualidade para produção de tipos variados de queijo, nas propriedades rurais. Devido à alta incidência de leite instável não ácido (LINA) em propriedade de pequenas, muitas vezes o leite é destinado à produção de queijos do “tipo colonial” (Kunz *et al.*, 2024).

Diante deste cenário, não há padronização estipulada para o processo produtivo, e não se conhece de forma clara o resultado dos diferentes processos empregados na produção de queijo “tipo colonial artesanal”. Também vale ressaltar que produtos utilizados na alimentação animal, até mesmo como aditivos, podem auxiliar na prevenção, diminuição, ou correção de problemas. Uma alternativa é o uso de OE, os quais podem atuar de diversas formas no organismo, com possíveis efeitos sobre a qualidade do leite. Os OE podem atuar melhorando o sistema imune e antioxidante dos animais, alterar características fermentativas ruminais, e até mesmo condições fisiológicas (estresse por calor) (Silva *et al.*, 2020). Há diversos produtos no mercado com diferentes finalidades e poucas pesquisas técnico-científicas, que caracterizam seu efeito sobre produtos lácteos. Para alinhar o presente trabalho às necessidades da indústria e órgãos governamentais em obter informações sobre produtos produzidos no estado, foi utilizado no presente estudo o queijo colonial e creme de leite. Com isso, os dados gerados poderão gerar informações relevantes para o processo produtivo e industrialização destes produtos.

Um dos enfoques da pesquisa é a caracterização de processos de confecção do queijo tipo colonial, um produto de representatividade no estado de Santa Catarina e que possui importância econômica pela geração de renda de produtores de leite. Além da possibilidade de monitoramento da qualidade do leite que chega aos laticínios, a avaliação do efeito de aditivos alimentares já considerados comuns na alimentação animal será investigada. Esta pesquisa justifica-se ao passo que não há na literatura técnica e científica, resultados que caracterizam

esse produto no estado de Santa Catarina, especialmente com relação ao microbioma do produto, o qual pode ser específico e trazer características exclusivas ao produto produzido na região.

Um requisito observado é a composição do microbioma dos queijos, porém ainda não conhecido destes produtos regionais. A composição dos microrganismos presentes é importante, pois estes estão envolvidos em vias metabólicas, modificando-as. Também podem atribuir sabores e aromas aos alimentos e mesmo configurar o alimento como um probiótico. Ao longo do tempo, a composição e funcionamento da microbiota podem sofrer influências de diferentes fatores: ambiente, manipulação dos alimentos, uso de antibióticos na produção animal, doenças, entre outros (Menezes *et al.*, 2014). Dentre as técnicas utilizadas para descrever a microbiota são utilizadas as baseadas em cultura para identificar bactérias lácticas, além de microrganismos deteriorantes e patogênicos presentes nos queijos. No entanto, quando uma bactéria não é cultivável, o que pode acontecer com a maioria das espécies, esses métodos não conseguem identificá-las. Assim, métodos independentes de cultura, como o sequenciamento de alto rendimento baseado no gene 16S rRNA, são mais adequados para avaliar a microbiota (Endres *et al.*, 2021).

Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar se a inclusão de OE de menta e eucalipto na dieta de vacas leiteiras altera as características organolépticas e o microbioma dos produtos lácteos produzidos a partir desse leite.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 PRODUÇÃO DE LEITE E DERIVADOS

#### 2.1.1 Leite

O crescimento da produção leiteira na cadeia produtiva do leite tem grande importância econômica e social no mundo todo. No Brasil, tem ampla importância na geração de empregos no campo, nas indústrias, assistência técnica e comercialização de produtos.

Diante do cenário de maior destino de leite de menor qualidade para a produção de queijo do “tipo colonial”, não há padronização estipulada para o processo produtivo do mesmo, e não se conhece de forma clara o resultado dos diferentes processos realizados. Neste contexto, vale ressaltar que produtos utilizados na alimentação animal, até mesmo como aditivos, podem auxiliar na prevenção, diminuição, ou correção de problemas. Uma alternativa é o uso de OE, os quais podem atuar de diversas formas no organismo, com possíveis efeitos sobre a qualidade do leite.

O crescimento na produção de leite no mundo está vinculado principalmente a países emergentes nesta categoria de produção e ocorre graças ao crescimento no número de vacas em seus territórios e não ao aumento no potencial leiteiro de cada animal, visto que os investimentos em saúde, alimentação e genética destes rebanhos são falhos (FAO, 2020). Neste contexto, o Brasil se encontra no quinto lugar na produção mundial de leite, sendo que a Índia ocupa a primeira colocação, seguida dos Estados Unidos, Paquistão e China (FAO, 2022).

Desde 2021 a produção brasileira de leite tem se mantido no patamar das 35,3 milhões de toneladas (Embrapa, 2020; IBGE, 2022), o que demonstra estagnação na produção nacional. A maior parte da produção ocorre em pequenas e médias propriedades, fazendo-se presente em 98% dos municípios brasileiros (Embrapa, 2020) e reunindo cerca de um milhão de produtores (IBGE, 2023). A média mundial da produção por vaca é de aproximadamente 2.660 litros de leite na lactação, enquanto a brasileira é de 2.280 litros por vaca/ano (Embrapa, 2020). No geral o Brasil apresenta baixa produção por animal em comparação a países em que a atividade leiteira possui maior desenvolvimento, entretanto nosso país possui regiões com grande produção por animal, como a região de Ponta Grossa, Castro e Carambeí, Paraná (PR), com produtividade de até 8.541 litros/vaca/ano (Embrapa, 2022).

Com uma produção mais constante ao longo do ano, a indústria de laticínios brasileira também tem se beneficiado. No ano de 2021 o estado de Santa Catarina produziu o montante de 2.944.843 bilhões de litros de leite, responsável por 11,8% da produção nacional, um pequeno estado em área territorial para uma grande produção (ABIQ, 2022). A maior parte dos



produtores catarinenses (80%) se encontra no Oeste do estado, região em que o estudo foi conduzido. Mais dados sobre a produção láctea constata na Tabela 1.

A produção leiteira tem evoluído muito ao longo dos anos, principalmente em relação a qualidade do leite produzido, pois este tem um efeito importante no rendimento e na qualidade do produto final. A composição, qualidade higiênica, saúde da vaca em termos de mastite e o nível de contaminantes presentes podem ter um impacto no rendimento e/ou qualidade e, consequentemente, retorno financeiro dos produtos derivados do leite (Langoni *et al.*, 2017). As Instruções Normativas vigentes e estabelecidas pelo MAPA também colaboram para que a qualidade do leite entregue seja melhor.

O leite é um alimento com boas características nutricionais, sendo assim um ambiente adequado para o crescimento e desenvolvimento de vários microrganismos, os quais poderão impactar diretamente na qualidade e vida útil desta matéria prima e por consequência nos produtos derivados (Porcellato *et al.*, 2018). Os derivados lácteos devem seguir os parâmetros da Instrução Normativa Nº 161, de 1º de julho de 2022, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2022). No Quadro 1 observa-se os valores máximos da concentração de microrganismos por tipo de derivados do leite.

*Tabela 1 - Produção de leite sob inspeção no Brasil, por regiões e principais estados produtores no ano de 2021 - Em mil litros*

Brasil	Ano de 2021	Participação por estado em 2021 (%)
Total	24.989.331	100,0
Rondônia	588.41	2,4
Pará	229.453	0,9
Norte	964.928	2,9
Ceará	341.051	1,4
Pernambuco	270.790	1,1
Sergipe	307.050	1,2
Bahia	588.848	2,4
Nordeste	1.791.866	7,2
Minas Gerais	6.177.695	24,7
Espírito Santo	236.230	0,9
Rio de Janeiro	488.178	2,0
São Paulo	2.571.073	10,3
Sudeste	9.473.176	37,9
Paraná	3.492.803	14,0
Santa Catarina	2.944.843	11,8
Rio Grande do Sul	3.368.110	13,5
Sul	9.805.756	39,2
Mato Grosso	439.794	1,8
Goiás	2.427.967	9,7
Centro-Oeste	2.992.073	12,0

Fonte: IBGE, 2021. Elaboração: adaptada da Conab, 2022.

O leite é um alimento nutritivo e usado na alimentação humana tanto na forma líquida como na forma de seus subprodutos, como leite em pó, queijos, creme de leite, manteiga, bebidas lácteas e outras. Sendo o queijo um dos produtos mais consumidos e fabricados a partir do leite. Em alguns locais, como na região Oeste do estado de Santa Catarina, vê-se a produção de um queijo regionalizado, chamado queijo colonial. Por sua identidade, e modo de produção pode ser chamado de um queijo artesanal. A forma de adicionar o coalho, o fermento lácteo, os vários períodos de maturação são características que conferem ao queijo colonial a tipificação de um queijo colonial artesanal regional brasileiro (Kamimura *et al.*, 2019; Araújo *et al.*, 2020).

*Tabela 2 - Padrões microbiológicos para alimentos de acordo com a IN 161 de 2022.*

<i>Leite e derivados</i>	<i>Contaminação</i>		
Categoria	Micro-organismo/ Toxina/Metabólito	m	M
Leite pasteurizado	<i>Enterobacteriaceae</i> /ml	10	-
Queijo	Enterotoxinas estafilocócicas (ng/g)	Aus	-
	<i>Salmonella</i> /25g	Aus	-
	<i>Staphylococcus coagulase</i> positiva/g	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	<i>Escherichia coli</i> /g, para queijo ralado ou em pó	10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>2</sup>
	<i>Escherichia coli</i> /g para queijo com umidade abaixo de 46%	10	10 <sup>2</sup>
	<i>Escherichia coli</i> /g para queijo com umidade igual ou acima de 46%	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	Bolores e leveduras/g somente para queijo ralado ou em pó	5x10 <sup>2</sup>	5x10 <sup>3</sup>
Creme de leite	<i>Salmonella</i> /25g	Aus	-
	<i>Staphylococcus coagulase</i> positiva/g	10	10 <sup>2</sup>
	<i>Escherichia coli</i> /g	< 3	10
	Bolores e leveduras	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>

Fonte: adaptada da IN 161 de 2022.

Para conseguir manter esta identidade do queijo colonial, o estado de Santa Catarina formulou a Lei Nº 18.250, de 10 de novembro de 2021, a qual dispõe sobre os requisitos exigidos para elaboração do regulamento técnico de identidade e qualidade do queijo colonial artesanal (Anexo A). Assim, a identificação das comunidades microbianas presentes no leite é importante para garantir a segurança alimentar do produto e seus derivados.

Em 07/03/1996, foi estabelecida a Portaria nº 146, elaborada pelo MAPA (BRASIL, 1996), que define o Regulamento Técnico de Identidade de Queijos. Segundo a portaria queijo é definido como sendo, “o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos

especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes” (BRASIL, Portaria nº 146, DE 07 DE MARÇO DE 1996).

Em busca de melhoria da qualidade do leite entregue aos laticínios, o país tem realizado esforços de modo a mensurar tal qualidade, por meio de Instruções Normativas (IN) instituídas pelo MAPA que preconizam padrões mínimos de identidade do leite cru refrigerado (IN 76 – MAPA) e critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial (IN 77 – MAPA) (BRASIL, 2018), além da Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019 (Anexo B) – a qual enfoca as características dos queijos artesanais (BRASIL, 2019).

### 2.1.2 *Crema de leite*

O crema de leite é o produto lácteo com alto teor de gordura, obtido através do desnatado do leite, e consiste em uma emulsão de gordura e água (Hoffmann, 2011a). Possui composição similar ao leite integral com o diferencial pela alta quantidade de gordura (Gonçalves, 2012).

Pode passar pelo processo de pasteurização, sendo então chamado de crema de leite pasteurizado (Brasil, 1996). É tradicionalmente utilizado na indústria, como adicional na fabricação de inúmeros alimentos principalmente em produtos de panificação e cafés, mas nos últimos anos há aumento na procura por produtos estéticos para cuidados pessoais e indústria de bebidas. Considerado um produto de consumo restrito, pois a gordura corresponde a apenas 4% dos constituintes do leite, além de precisar de resfriamento (Hoffmann, 2011b). De acordo com a legislação brasileira (Brasil, 1996), o produto denominado crema de leite é aquele com teor mínimo de 10% de gordura láctea, sendo o crema de leite gordo o que tem no mínimo 50% de gordura. Podendo ser classificados como:

- Crema de baixo teor de gordura ou crema leve (10 a 19,9g gordura/100g de crema);
- Crema (20 a 49,9g de gordura/100g de crema e
- Crema de alto teor de gordura (acima de 50g de gordura/100g de crema).

Quando o crema de leite tem mais que 40% de gordura pode ser classificado como duplo crema, com mais de 35% de gordura pode ser chamado de crema para bater, e ainda, quando o crema de leite passar pelo processo e homogeneização, pode ser chamado de homogeneizado, de acordo com a portaria 146/96 (Brasil, 1996). Em 2018, a produção de crema de leite ultrapassou a marca de 479 mil toneladas ao ano (Embrapa, 2022).

A avaliação sensorial é essencial para que variações nas características da gordura nos dois grupos de crema de leite avaliados sejam melhor elucidadas assim como avaliar as

percepções e a aceitação dos consumidores, o que pode permitir ou não o sucesso dos produtos no mercado consumidor (Sidel e Stone, 1993).

Na região sul do Brasil, o creme de leite pasteurizado, com maior concentração de gordura (até de 50%) recebe a denominação de nata (Zacarchenco *et al.*, 2014).

Quanto a análise de acidez, o creme de leite deve apresentar o valor máximo de 0,2% ou 0,2g de ácido láctico/100g de creme (Brasil, Portaria nº 146, DE 07 DE MARÇO DE 1996), e não pode conter aditivo ou adjuvante. Este tipo de creme de leite deve ficar resfriado e mantido a temperatura não superior a 8°C (Zacarchenco *et al.*, 2014).

No passado, para produção do creme de leite, o creme era separado do leite integral por gravidade. Com a industrialização faz-se uso da força centrífuga gerada por rotação, com desnatadeiras manuais ou elétricas, separando a gordura em forma de creme do leite desnatado (Huppertz e Kelly, 2006; Smiddy *et al.*, 2009).

### 2.1.3 Queijo colonial

Muitos países são grandes produtores de queijo, fomentando o comércio local, trazendo trabalho a população e impulsionando famílias a se manter no campo (Embrapa, 2020). Dados dos maiores produtores mundiais de queijo e a produção nacional estão disponíveis na Tabela 3. Apesar de ser grande produtor mundial de leite, a pequena produção do Brasil chama a atenção, uma vez que o país converte pequena quantidade em produção de queijo (ABIQ, 2021). Os Estados Unidos retêm o título de maior produtor mundial de queijo produzido a partir de leite de vacas (Faostat, 2021), com produção de aproximadamente 6 milhões de toneladas ano.

*Tabela 3 - Maiores produtores mundiais de queijo no ano de 2021.*

País produtor de queijo	Quantidade produzida em toneladas
Estados Unidos	5.959.034
Itália	1.185.970
Holanda	953.000
Canadá	557.109
Reino Unido da Grã-Bretanha e Irlanda do Norte	470.000
Dinamarca	457.000
Argentina	429.411
Austrália	381.000
Nova Zelândia	365.000
Irlanda	278.400
Brasil	120.000

Fonte: FOASTAT/ ABIQ, 2021.

As comparações entre diferentes tipos de queijos e regiões devem ser cuidadosamente avaliadas, levando em consideração a tecnologia de fabricação, composição do leite e tempo de maturação para cada tipo de queijo analisado. Outro foco da pesquisa é caracterização de processos de fabricação do “queijo tipo colonial”, um produto de representatividade no estado de Santa Catarina e que possui importância econômica pela geração de renda de produtores de leite. Além da possibilidade de monitoramento da qualidade do leite que chega aos laticínios, a avaliação do efeito de aditivos alimentares já considerados comuns na alimentação animal será investigada. Esta pesquisa justifica-se ao passo que não há na literatura técnica e científica, resultados que caracterizam esse produto no estado de Santa Catarina, especialmente com relação ao microbioma do produto, o qual pode ser específico e trazer características exclusivas ao produto produzido na região.

O interesse pela compreensão da microbiota presente no leite e seus derivados têm crescido significativamente nas últimas décadas. Isso porque a microbiota influencia diretamente nas características do produto final. A microbiota do leite cru e do queijo é abundante e composta principalmente por bactérias do ácido láctico (BAL), com os gêneros mais comuns sendo *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* e *Enterococcus* (Quigley *et al.*, 2013). Por ser um produto que permanece sob refrigeração até sua industrialização, algumas bactérias psicotróficas podem estar presentes, como *Pseudomonas* e *Acinetobacter spp.* (Quigley *et al.*, 2013). Os queijos apresentam menor diversidade na microbiota, pois sofre interferência no processo de fabricação, tratamento térmico do leite, adição de culturas iniciadoras, os gêneros geralmente utilizados são *Lactobacillus* e *Streptococcus* (Proença, 2020).

Segundo de Mello *et al.* (2021), a qualidade microbiológica dos queijos não depende necessariamente da pasteurização do leite. No entanto, isso influencia na segurança do produto, tendo em vista que ele é capaz de reduzir ou mesmo eliminar potenciais bactérias patogênicas e deteriorantes que possam estar presentes no leite cru. Além disso, os autores sugerem que, além da pasteurização, o controle sanitário do rebanho, a padronização do processo de fabricação, a redução do pH, a retirada de água e a adição de sal na produção de queijos, produzidos com matérias-primas ou leite pasteurizado, são condições que favorecem a segurança microbiológica desses produtos.

## 2.2 DIVERSIDADE DAS COMUNIDADES MICROBIANAS NO LEITE E QUEIJO COLONIAL

O leite é um excelente substrato, contendo água, lipídios, proteínas, carboidratos e micronutrientes que são a base para a multiplicação dos microrganismos (Menezes *et al.*, 2014). A diversidade microbiana presente nos alimentos, especialmente em produtos lácteos como o leite e queijo é fundamental na determinação de suas propriedades organolépticas e propriedades físico-químicas, além de promover o bem-estar do consumidor. Entender as várias contribuições, positivas e/ou negativas, desses microrganismos presentes no leite e seus derivados é importante. Não só os microrganismos benéficos à saúde humana estão presentes nesses produtos, devido à manipulação e condições higiênico-sanitárias inapropriadas, muitos patógenos podem estar presentes.

Os microrganismos podem ser provenientes do solo, da água, do ar, utensílios, seres humanos e animais. Esses podem agir de forma benéfica ou maléfica na produção de alimentos: podem ser considerados como deteriorantes sendo responsáveis pela deterioração e diminuição da vida útil do produto; patogênicos, quando podem causar doenças, sendo responsáveis pela grande maioria das toxinfecções alimentares; e os microrganismos fermentadores que são chamados de úteis industrialmente, utilizados nos processos de fabricação de alimentos responsáveis pelas características organolépticas do produto, bem como em alguns casos propriedades probióticas (Azeredo *et al.*, 2012). Assim, a indústria de laticínios deve buscar formas de produzir leite e seus derivados com o menor nível de contaminação possível, a fim de garantir a conservação do produto e a segurança alimentar do consumidor. Um meio para melhorar a segurança alimentar é através do uso de aditivos, como os OE, que podem substituir os antimicrobianos.

Os microrganismos capazes de causar deterioração no leite pertencem a um dos quatro grupos fisiológicos: produtores de ácido láctico, produtores de ácido propiônico, produtores de ácido butírico ou produtores de enzimas degradativas (Quigley *et al.*, 2013). Os microrganismos que povoam o leite podem chegar a este através de duas vias: a endógena e a exógena, a depender da higiene. Bactérias como *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Microbacterium*, *Propionobacterium*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* e *Listeria*; além de alguns representantes do grupo dos coliformes fecais podem ser encontradas em leite cru resfriado. Esses contaminantes do leite são importantes à saúde pública, pois podem ser agentes de zoonoses (Menezes *et al.*, 2014).

Algumas BAL são usadas como fermento biológico em condições controladas (Hassan *et al.*, 2011). Grupos de BAL, fungos e leveduras se proliferam melhor durante a maturação e contribuem para o aroma e textura de derivados lácteos (Silva *et al.*, 2015). São exemplos de BAL os gêneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* e *Lactococcus* (Quiley *et al.*, 2011). Em relação aos microrganismos indesejáveis em produtos lácteos, atenção especial deve ser dada às bactérias formadoras de esporos, que são contaminantes importantes na indústria de laticínios, como as pertencentes ao gênero *Clostridium* e enterobactérias que em queijos contribuem para piora na qualidade sensorial (Delbés-Paus *et al.*, 2012). Os principais microrganismos que influenciam no perfil da microbiota do queijo são *Streptococcus spp.*, *Escherichia coli* e *Shigella spp.*, sendo que estes foram observados em leite de animais saudáveis (Esteban-Blanco *et al.*, 2019). Quando o leite é submetido ao processo de pasteurização, grande parte desses microrganismos é eliminada, principalmente os patogênicos. Tanto a pasteurização, quanto a adição de cultura *starter* irão influenciar a composição da microbiota final do produto e as características organolépticas (Santos, 2018). Steinbach, *et al.* (2021) realizaram análises multifatoriais no queijo colonial detectando que ele se mostrou rico em gordura e com umidade média, sem padronização em seu processo de produção e características físico-químicas, produzindo variados sabores nas amostras sensoriais, que é pouco acentuada em geral. Os provadores associaram o consumo de queijo colonial ao tradicionalismo regional, além de emoções como prazer, satisfação e bem-estar.

No entanto, devemos levar em conta a segurança alimentar, levando em conta que a qualidade microbiológica tem sido um problema frequente. A comunidade microbiana de produtos lácteos é tradicionalmente estudada por técnicas de cultivo independente, chamadas técnicas convencionais, que são utilizadas para pesquisar grupos específicos de bactérias. Entretanto, essas técnicas apresentam algumas limitações. Estima-se que de toda a diversidade de microrganismos encontrados no leite e seus derivados, apenas de 0,1 a 1% são microrganismos cultiváveis (Leon, 2018). Com isso, existe uma ausência de informações sobre a diversidade microbiana de amostras de leite e seus derivados. Estes podem por sua vez ser responsáveis pela síntese de moléculas de interesse biológico ainda desconhecido.

Com a ascensão da biologia molecular, métodos como a Reação em Cadeia Polimerase (PCR) associada ao sequenciamento de alto rendimento (HTS) do gene do rRNA 16S (16S rRNA), permitem estudar a diversidade das comunidades microbianas com uma abordagem independente de cultivo baseada na investigação das moléculas de DNA dos microrganismos de uma determinada amostra (Leon, 2018). Diante disso, a caracterização e a compreensão da microbiota dos leites e queijos podem trazer respostas valiosas para o melhor entendimento das

comunidades microbianas, bem como sua importância para a saúde humana e para os processos tecnológicos.

Entre as diversas técnicas empregadas na caracterização da microbiota presente em alimentos, a técnica de sequenciamento de DNA por meio da amplificação do gene 16S rRNA tem se destacado na definição do microbioma em alimentos (Wensel *et al.*, 2022). Os resultados obtidos através da técnica de sequenciamento são amplamente utilizados para avaliar a diversidade taxonômica de microrganismos.

### 2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

Os OE são geralmente líquidos voláteis, mas às vezes sólidos, extraídos de diversas partes das plantas aromáticas, entre elas a parte aérea (flores, folhas e caules), cascas, frutas, sementes, raízes e rizomas (Ríos, 2016). De acordo com a Organização Internacional de Padronização, o óleo essencial é produzido por destilação a vapor ou água, por processamento mecânico ou por destilação a seco (ISO, 9235:1997).

Os OE são metabólitos secundários das plantas aromáticas e na natureza possuem ação de proteção das plantas contra bactérias, vírus, fungos e insetos e, adicionalmente, contra animais consumidores, reduzindo sua palatabilidade (Shaaban, 2020). Além disso, os OE podem atrair alguns insetos para favorecer a polinização para produção de sementes, ou repelir outros indesejáveis (Bakkali *et al.*, 2008). Os OE são utilizados na aromatização de alimentos, produção de perfumes, cosméticos e repelentes, produção de antimicrobianos e anti-inflamatórios (Calsamiglia *et al.*, 2006; Ramadan *et al.*, 2015).

Os OE são moléculas com grande potencial para substituir promotores de crescimento, utilizou-se de OE derivados de *Eucalyptus globulus*, *Cinnamomum zeylanicus* e *Origanum vulgare* via água de bebida para os frangos de corte (Santo, 2021). Mais recentemente os OEs têm sido utilizados na produção animal como alternativa ao uso de promotores de crescimento em animais, incluindo bovinos (Embrapa, 2021). Esses óleos possuem propriedades antimicrobianas, antioxidantes e imunomoduladoras, tornando-os uma opção viável para substituir os aditivos à base de antibióticos (Traesel *et al.*, 2011, Oliveira *et al.*, 2023).

Alguns exemplos de OE que podem ser utilizados são a hortelã, o orégano, o eucalipto, a pimenta e outros, que desempenham funções importantes na saúde dos animais. Além disso, esses compostos apresentam baixa toxicidade e resultados benéficos no campo, contribuindo para a saúde e o desempenho dos bovinos (Torrent, 2012). Portanto, considerando a crescente



preocupação com o uso excessivo de antibióticos, os OE podem ser uma alternativa eficaz e sustentável para promover o crescimento saudável dos animais.

São diversos os produtos à base de OE disponíveis no mercado, com diferentes objetivos de uso, porém, são poucas as pesquisas técnico-científicas, principalmente nacionais, que caracterizam os efeitos dos OE usados como aditivos alimentares para animais. Seu uso tornou-se mais popular na União Europeia como alternativa ao uso de antibióticos. Compostos fitogênicos possuem capacidade de ação como moduladores digestivos, antibióticos, imunomoduladores, antioxidantes, anti-inflamatórios, entre outras (Stevanovic *et al.*, 2018).

Produtos usados na alimentação animal (e não adicionados a produtos em processo de industrialização ou já industrializados) não devem atuar sobre as características dos produtos obtidos. Na presente proposta serão produzidos queijo colonial e creme de leite, advindos de vacas suplementadas ou não com OE. Além do leite, realizamos o beneficiamento e fabricação dos derivados lácteos, creme de leite para concentrar a gordura do leite e avaliar possíveis alterações sensoriais e queijo para avaliarmos se a utilização dos OE de menta e eucalipto acarretaria mudanças nos padrões do queijo Colonial durante a maturação.

### 2.3.1 *Uso dos óleos essenciais*

O uso de aditivos alimentares traz benefícios à saúde dos animais. Já se sabe que os OE são usados para prevenção de problemas respiratórios, assim como amenizar o estresse térmico em bezerros e suínos. Se conhece as propriedades antimicrobianas do óleo essencial de menta, relacionadas com seu componente mentol (Rassoli *et al.*, 2007; Menezes *et al.*, 2014).

Muitos componentes bioativos dos OE possuem efeito aditivo ou sinérgico na fermentação ruminal com melhoria na utilização de nutrientes em animais sob estresse térmico (Benchaar; Greathead, 2011). Sabe-se sobre a ação dos OE (Stevanovic *et al.*, 2018), porém não se tem ideia sob a ação na glândula mamária quando administrado por via oral e se na dose a ser administrada é capaz de agir sobre as bactérias patogênicas.

O uso de OE como adjuvante na produção animal veio auxiliar na melhoria das condições de produção e bem-estar animal (Campanha *et al.*, 2023). Apesar de estudos conhecidos com os OE de eucalipto e mentol, em espécies animais como aves e suínos, assim como em ruminantes, faltam dados científicos sobre seu uso em vacas leiteiras e seus possíveis efeitos sobre a composição do leite.

Óleos essenciais têm sido usados na bovinocultura de leite, tanto diretamente nos animais, por diferentes vias, tanto através da água de bebida, alimentação ou aleitamento em

lactantes, quanto adicionado ao leite das vacas após a ordenha como forma de combater os microrganismos patogênicos (Stevanovic *et al.*, 2018).

São muitos os compostos responsáveis pelo sabor final dos produtos lácteos, entre eles, ácidos graxos voláteis (ácidos graxos acético e butírico), ácidos não voláteis (ácidos pirúvico e láctico), compostos diversos (aminoácidos formados por degradação térmica) e compostos carbonílicos (diacetil e acetaldeído) (Güler e Gürsoy-Balci, 2011). Com o intuito de melhorar a aceitabilidade e otimizar o sabor, alguns aditivos são utilizados em produtos lácteos, como por exemplo, aromatizantes (naturais ou sintéticos), frutas e adoçantes (Bachir *et al.*, 2013).

Óleo de eucalipto é relatado como potencializador de penetração (Souza *et al.*, 2021), e em estudo realizado com este óleo obteve-se como resultado um aumento considerado expressivo da permeabilidade do fármaco anti-inflamatório cetorolaco de trometamol quando usado óleo na faixa de concentração entre 7,5% e 10% obtiveram boas taxas de permeabilidade na pele (Souza *et al.*, 2021). Outro estudo avaliou um produto comercial em pó contendo OE de eucalipto, tomilho e erva-doce adicionado a alimentação e vacas, resultando em maior ingestão de matéria seca sem alterar a composição do leite ou a capacidade de coagulação sanguínea dos animais, concluindo que a mistura de OE pode ser usada para combater doenças respiratórias, sem prejudicar a produção ou composição do leite (Giller *et al.*, 2020).

Estudos indicam que o uso de blend de OE adicionado à alimentação de vacas leiteiras causou aumento na quantidade de gordura do leite (Silva *et al.*, 2020). Lejonklev *et al.* (2016) afirmaram que o uso de OE em dieta de vacas leiteiras resultava em leite UHT com aroma e sabor fresco, aroma de milho, bem como aroma e sabor de armazenados. Há relatos sobre compostos orgânicos voláteis (COV) encontrados em queijo e ricota, obtidos a partir de leite de vacas criadas a pasto, o que deixa evidente que a gordura presente no queijo foi capaz de armazenar os compostos orgânicos voláteis, intensificando seu aparecimento nas análises realizadas dentro de um ano de estudo. A vida útil do creme pasteurizado foi aumentada no estudo realizado por Ehsani *et al.* (2016), utilizando OE de *Echinophora platyloba* e licopeno, sendo avaliado as características microbianas, estabilidade lipídica e características sensoriais quando preservado a 4°C e 25°C por 2 semanas. Resultados de estudos microbianos e análise química e avaliação sensoriais que mostraram aceitabilidade favorável. Contudo, manter o sabor dos produtos pode ser um desafio, quando os OE foram suplementados para vacas leiteiras em maiores concentrações (Mishra *et al.*, 2020).

Extratos e OE são indicados com atividade antimicrobiana *in vitro* satisfatória contra patógenos e microrganismos deteriorantes associados com contaminação do queijo (Gouveia *et al.*, 2017). Porém são necessárias investigações no alimento devido à complexidade da matriz

alimentar, na qual os fatores intrínsecos e extrínsecos podem interferir na atividade desses compostos, modificar características e aspectos sensoriais do produto de forma não satisfatória.

Óleos essenciais têm sido usados no tratamento de infecções na glândula mamária. Atualmente o principal meio de tratamento é o uso de antibióticos, que se não bem manejado pode causar resistência bacteriana. Neste caso os OE de diferentes plantas como hortelã, eucalipto, orégano, entre tantas mais, entram como alternativa de tratamento (Caneschi *et al.*, 2023).

Óleos essenciais de *Lavandula angustifolia* e *Thymus vulgaris* foram testados para substituir antibióticos sintéticos, no tratamento de mastites causadas por *Staphylococcus* e *Streptococcus* em vacas leiteiras demonstrando potencial de ação equivalente ao antibiótico sintético. O uso da solução na concentração de 10% para tratamento da mastite por via intramamária diminuiu a contagem microbiana, mesmo quando usado por quatro vezes subsequentes. Neste estudo foi constatado também o potencial anti-inflamatório dos OE (Abboud *et al.*, 2013).

Estudos com cinamaldeído, provindo de OE, elucidaram sua ação *in vitro* contra bactérias patogênicas que podem ser encontradas em produtos lácteos (creme de leite, queijo, entre outros), como *Salmonella enterica*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* entre outras (Friedman, 2017). Outros autores estudaram o efeito antibacteriano do óleo essencial de canela na dose de 3 µg/ml em sinergismo com sistema peroxidase contra *Salmonella* e demais microrganismos presentes em leite cru, como resultado observaram que ação dos princípios ativos combateu os microrganismos (Abbes *et al.*, 2018).

## 2.4 ÓLEOS ESSENCIAIS DE MENTA E EUCALIPTO

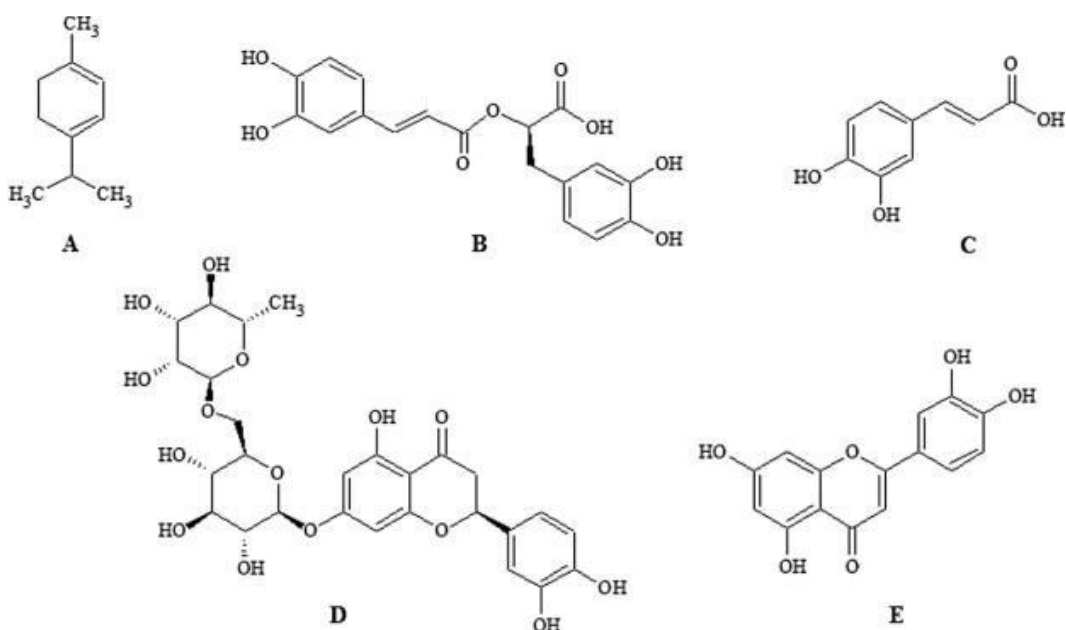
### 2.4.1 Óleo Essencial de Menta

O óleo de hortelã deriva da planta *Mentha piperina* L. popularmente conhecida como hortelã-pimenta, pode ser usada como planta medicinal, aromatizante ou tempero em alimentos ou loções (Gasparin *et al.*, 2014). As plantas aromáticas do gênero *Mentha* são consideradas como as mais antigas plantas medicinais e aromáticas do mundo (Tyagi; Malik, 2011). É considerada de consumo “seguro” pela FDA - Food and Drug Administration (Cimino, 2021). Tem por característica sua capacidade de variar sua tonalização, entre incolor, amarelado ou esverdeado, com odor próprio, penetrante e sabor ardente e canforado. Possui composição variável entre mentol, mentona, mentofurano, cis-carano e cineol dependendo do tipo de

extração utilizado para obtenção do óleo (Beigi *et al.*, 2018). O aroma é dado pelo mentol, que é um álcool monoterpênico cíclico com três carbonos assimétricos (Lin *et al.*, 2022). É conhecido também por suas propriedades bactericidas (Kowalski *et al.*, 2024), podendo agir como análogo a antibióticos. Os ácidos graxos presentes em maior abundância no óleo de menta são o palmítico (C16:0), o linoleico (C18:2), e o linolênico (C18:3) (Maffei; Scannerini, 1992), que na planta servem para armamento e reserva de carbono. Os ácidos graxos e a coloração dos óleos podem variar de acordo com o estágio em que a planta que o deu origem foi colhida.

Folhas de menta contribuem para o equilíbrio redox em células humanas por possuir fitoquímicos, como vitaminas, fenólicos e antioxidantes terpênicos. O mix de antioxidantes presentes pode atuar sobre o estresse oxidativo nos organismos (Riachi *et al.*, 2015). Os principais antioxidantes presentes no óleo de menta estão representados na Figura 1.

Figura 1 - Antioxidantes naturais importantes na menta. A:  $\alpha$ -terpineno; B: ácido rosmarínico; C: ácido cafeico; D: eriocitrina; E: luteolina.



Fonte: Riachi (2015).

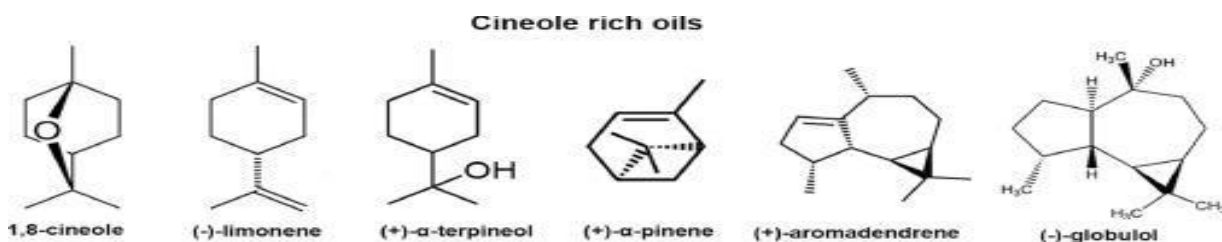
#### 2.4.2 Óleo Essencial de Eucalipto

O gênero *Eucalyptus* pertence à família *Myrtaceae* e é uma árvore nativa da Austrália e da Tasmânia, difundida mundialmente (Kouidhi *et al.*, 2015). O óleo essencial está presente principalmente nas folhas da planta (Barbosa, *et al.*, 2016). Existem muitas espécies de eucalipto descritas (mais de 600), todas ricas em compostos monoterpênicos, sendo que as espécies com maior atividade medicinal são as ricas em cineol (Bizzo, 2009). Além deste 1,8-

cineol ou eucaliptol, possui outros constituintes como macrocarpais (floroglucinol-sesquiterpenos), eucaliptina, monoterpenos ( $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno), fenóis, ácido oleanólico, flavonoides (8-desmetil-eucaliptina, 6,8-dimetilkaempferol-3,7 dimetil éter), alcaloides, taninos, 2'6'-di-hidroxi-3'-metil-4'-metoxi-di-hidrocalcona, fenolaldeídos terpenóides e verbenona, uma cetona bicíclica monoterpênica (Chandorkar, 2021).

Quanto a constituição dos ácidos graxos presentes no óleo de eucalipto, temos ácido linoleico (C18:2), ácido palmítico (C16:0); ácidos Z -vacênico (C18:1n-7), oléico (C18:1n-9), ácido mirístico (C14:0), ácido esteárico (C18:0), ácido linolênico (C18:3), ácido araquídico (C20:0), ácido behênico (C22:0), ácido erúcico (C22:1), ácido erúcico (C22:1), ácido lignocérico (C24:0), C18:1/C18:2, (Ghazghazi *et al.*, 2021). Podemos visualizar alguns componentes do óleo de eucalipto na Figura 2.

Figura 2 - Estruturas químicas do óleo essencial de eucalipto.



Fonte: adaptada de Chandorkar, (2021).

O *Eucalyptus* spp. é usado popularmente no tratamento de inflamações pulmonares e mucosidade excessiva (Dogan *et al.*, 2017). Esta planta é muito utilizada no combate dos sintomas da gripe, cujo uso se faz por meio de xarope, eficaz no tratamento da asma, bronquite, sinusite e diarreia (Mota *et al.*, 2015). O óleo essencial do eucalipto é um agente eficaz para infecções virais e bacterianas. Os OE do gênero *Eucalyptus* tem função antibiótica, anti-inflamatória, acaricida, antifúngica antioxidante (Rantzsch *et al.*, 2009; da Silveira *et al.*, 2021).

A planta possui capacidade de combater insetos (Danna *et al.*, 2023) antioxidante, herbicida e antifúngica (Kouki *et al.*, 2022). Observou-se que o óleo de *Eucalyptus globulus* apresentou potencial de inibir o crescimento bacteriano superior quando comparado à clorexidina em placas de ágar. Demonstrou capacidade inibitória sobre *Staphylococcus aureus*, e inibição idêntica à da clorexidina quando aplicado aos microrganismos *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* e *Candida albicans*. Possui atividade antimicrobiana contra diferentes

microorganismos e parece ser uma alternativa viável como agente germicida (Mota *et al.*, 2015).

### 3 METODOLOGIA

Os procedimentos utilizados no presente experimento foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa em animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), sob protocolo CEUA nº 5448251022, e no Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos – CEPESH/UDESC-CAAE: 67158823.8.0000.0118 (Anexo C).

#### 3.1 ANIMAIS, TRATAMENTO E OBTENÇÃO DO LEITE

O leite de vacas Jersey leiteiras, de um rebanho comercial mantido em criação tipo *compost barn*, localizado no município de Guatambú, Santa Catarina, região sul do Brasil, foi utilizado no presente estudo. Um total de 40 vacas em lactação, divididas em dois grupos de 20 vacas cada, lactações homogêneas quanto a produção de leite (l) e dias em lactação (DEL) e alocadas em um delineamento inteiramente casualizado. Um grupo recebeu os OE (grupo tratado) na dose de 3,6 ml/vaca/dia, e o outro apenas água como placebo (grupo controle). O estudo foi conduzido com 14 dias de adaptação, para que a ação dos OE sobre os microrganismos ruminais possam ser percebidos, e 17 dias de coleta de dados, para cada grupo.

Os animais receberam suplementação com aditivo que contém em sua composição óleos de menta (cristais de menta) e eucalipto, nas concentrações mínimas no produto de 87 e 126 g/kg, respectivamente. Os OE compõem um *blend* comercial fabricado pela empresa Biochem Zusatzstoffe Handels-Und Produktionsges MBH, Alemanha, importado pela empresa Biochem do Brasil Nutrição Animal LTDA. O produto é cadastrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, sob nº 245/2020/UTVDA/DREP. O produto foi diluído em água e incorporado ao alimento (TMR) do grupo tratado, enquanto o controle recebeu apenas adição de água. No total de 72 ml (3,6 ml/vaca x 20 animais GT) foram diluídos em nove litros de água (indicação do fabricante), e despejados no vagão forrageiro com uso de regador. A alimentação foi fornecida após as ordenhas da manhã e tarde.

O leite coletado a partir de uma ordenha completa, dos grupos controle e tratado foram acondicionados nos tarros individuais com capacidade de 40 litros, para cada grupo e resfriados à 4°C (de acordo com a IN 77, 2018).

O leite oriundo dos grupos controle e tratamento, coletado em replicata, aos dias 30 e 31 de suplementação, foi transportado até o Laboratório de Alimentos do Centro Universitário

SENAI SC, campus Chapecó - UniSenai, onde passou pelo processo de pasteurização lenta, com temperatura de 65°C por 30 minutos. Em seguida as amostras foram coletadas e encaminhadas ao Laboratório de Análise de Alimentos Instituto SENAI para realização das análises preconizadas pela legislação de produtos de origem animal. No leite foram avaliados os parâmetros de densidade (MAPA, 2022), extrato seco desengordurado (MAPA, 2022), extrato seco total (ISO 6731:2010-IDF21), lipídios totais (NMKL 40:2005), índice crioscópico (ISO 5764:2009-IDF108), proteína total (ISO 8968-1:2014-IDF-20-1), acidez (AOAC 947.05, 21st ed, 2019). As análises microbiológicas realizadas foram contagem total de enterobactérias (AFNOR 3M 01/06- 09/97), respeitando o exigido pela instrução normativa 76 de 26 de novembro de 2018 e 161 de 01 de julho de 2022 (Brasil 2018, Brasil 2022).

Os leites dos grupos de controle e tratado, foram avaliados segundo Ehsani *et al.* (2016) quanto a substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), segundo metodologías descritas por Giampietro *et al.* (2008) e de Vyncke (1970). Em que 10 ml de leite de ambos os tratamentos foram homogeneizadas e misturados à 25 ml de solução de ácido tricloroacético (7,5% TCA, 0,1% de EDTA e 0,1% de galato de propilo), homogeneizado durante 2 minutos e filtrados em papel filtro. Em um tubo de ensaio, 5 ml do filtrado foram misturados com 5 ml de solução de TBARS 0,02 M. Os tubos foram fervidos em banho maria à 90°C durante 40 minutos juntamente com um branco (ácido 2-tiobarbitúrico + ácido tricloroacético), arrefecido sob água corrente e levado à densidade óptica (OD) em espectrofotômetro a 538 nm.

Para obtenção do creme de leite, foi realizada a coleta do leite nos dias 20 e 21 do experimento, nas ordenhas da manhã e tarde. Após a pasteurização lenta, o processo de desnate foi realizado com o leite na temperatura de 40°C, em desnatadeira elétrica (Casa das Desnatadeiras Ltda., capacidade para 50 litros de leite por hora), e posteriormente o creme obtido foi refrigerado a 5 °C. Também retiramos amostras para realização das análises físico/químicas, de acidez (AOAC 947.05, 21st ed, 2019.), lipídios totais (ISO 2450:2008-IDF 16), proteína total (ISO 8968-1:2014-IDF-20-1), resíduo mineral fixo/cinzas (IAL, 4ª ed., Brasília: 2005) e as análises microbiológicas de contagem de bolores e leveduras (AOAC OMA 997.02 21ª ed, 2019), contagem de *Staphylococcus coagulase* positiva (AFNOR 3M 01/09 - 04/03 A); detecção de *Salmonella spp.* (AOAC OMA 2011.03. 21ª ed, 2019), contagem total de *Escherichia coli* (AOAC OMA 991.14 21ª ed, 2019) e detecção de enterotoxinas estafilocócicas (AOAC OMA 2007.06. 21ª ed, 2019), conforme requerido pela legislação (BRASIL, 2022). Para conservação os cremes foram embalados em frascos (plástico de polipropileno, cor leitosa e capacidade para 4 kg) e conservados em temperatura igual ou inferior a 5°C (Portaria 146, de 07 de março de 1996), até a realização da análise sensorial.

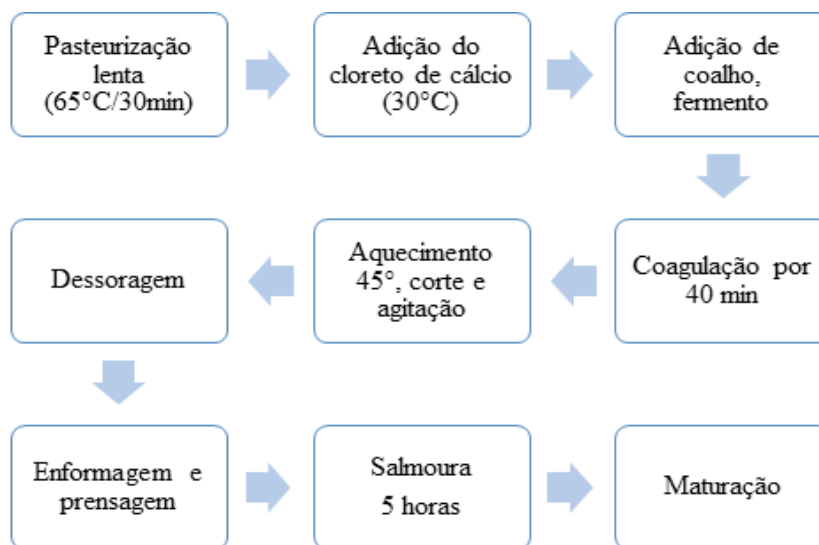
Foram produzidos queijos coloniais maturados, classificados segundo a Portaria de nº 146/1996, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos (BRASIL 1996), como queijo gordo (entre 45,0 e 59,9%) e de baixa umidade (até 35,9%). Os queijos foram elaborados seguindo metodologia de Tornambé *et al.* (2008) e Huanca *et al.* (2021) com leite (160 litros) oriundo dos grupos controle e tratamento (80 litros de cada grupo) coletados em replicata e encaminhados ao laticínio Casa Bianchi, Lajeado Grande, SC.

O leite para produção dos queijos artesanais maturados foi submetido a pasteurização lenta na temperatura de 65 °C por 30 minutos e posteriormente resfriado até 30 °C; então adicionado 2% de cultura láctica mesofílica (*Lactococcus lactis* spp. *Lactis* e *Lactococcus lactis* spp. *Cremoris* – Chr. Hansen). Todos os queijos foram produzidos com adição de 0,40 ml de cloreto de cálcio 50% e 0,14 ml de coagulante líquido, quimosina microbiana *Aspergillus niger* var. *awamori* (Christian Hansen), para cada litro de leite, homogeneizado e mantido em repouso por 30 minutos para obtenção da coalhada, e então cortado em cubos de 2 cm<sup>3</sup> e agitado durante 10 minutos à 42 °C para processo de dessoragem. O soro foi drenado estabelecido na IN 161 de 01 de julho de 2022 (BRASIL, 2022), e a coalhada transferida para formas de queijo (60 mm de profundidade por 20 cm de diâmetro), prensada com peso de 5 kg e armazenados em câmara fria a 8 °C e umidade relativa de 80%, sendo virados após 2 horas e desinformados após 8 horas para obtenção de peças de queijo com até 1 Kg. Após o desenforme, as peças foram colocadas em salmoura, e permaneceram nesta por 5 horas.

O processo de maturação ocorreu em câmara de maturação para queijos (SuckMilk®, Nova Erechim, Santa Catarina) com controle de umidade e temperatura (até 14 °C) conforme Decreto nº 362, de 21 de novembro de 2019. O processo de produção dos queijos Coloniais está descrito de maneira simplificada na Figura 3.



Figura 3 - Esquema simplificado da produção do queijo.



Fonte: elaborado pela autora

Os períodos de maturação avaliados foram de 7, 20, 45 e 60 dias, durante os quais foram realizadas as seguintes análises (com exceção dos 60 dias): umidade (ISO 5534:2004-IDF 4), proteína total (ISO 8968-1:2014-IDF-20-1), resíduo mineral fixo/cinzas (IAL, 4ª ed., Brasília: 2005, pH (IAL, 4ª ed., Brasília: 2005), lipídios totais (ISO 3433-IDF 222:2008), textura (Analisador de Textura Brookfield CT 3 4500), cor instrumental (analisador de cor CM-5 Konica Minolta), TBARS (Hartman, 1973), e microbiológicas contagem de bolores e leveduras (AOAC OMA 997.02 21st ed, 2019), detecção de *Salmonella spp.* (AOAC OMA 2011.03. 21st ed, 2019), contagem total de *Escherichia coli* (AOAC OMA 991.14 21st ed, 2019), detecção de enterotoxinas Estafilocócicas (AOAC OMA 2007.06. 21st ed, 2019) e contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* (AFNOR 3M 01/09 - 04/03 A).

A análise de ácidos graxos, dos queijos controle e tratado, foi realizada pelo método de Bligh e Dyer (1959) modificado. Para isso foi utilizado 1,5 g de cada amostra de queijo, somada a 0,5 ml de água, 5 ml de metanol e 2,5 ml de clorofórmio. Todas as partes colocadas em tubo de polipropileno com capacidade para 15 ml e logo agitada mecanicamente por 60 minutos. Na sequência adicionou-se 2,5 ml de clorofórmio e solução de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> na concentração de 1,5% para promover um sistema bifásico, seguida de nova agitação por mais 2 minutos para posterior centrifugação por 15 minutos a 2.000 rpm. A solução obtida no final do processo contendo os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMA) segundo Hartman e Lago (1973). A esta solução adicionou-se 1ml de solução metanólica de KOH 0,4 M em um tubo de ensaio e agitado em vórtice por 1 minuto. As amostras foram mantidas em banho-maria por 10 minutos em ponto

de ebulição. Posteriormente, foi resfriado à temperatura ambiente e 3 ml de solução metanólica de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 M foram adicionados e agitados em vórtex e mantido em banho-maria por 10 min. Após o resfriamento foi adicionado 2 ml de hexano e centrifugado a 2.000 rpm por 10 minutos. O FAMA dissolvido em hexano foi analisado em cromatógrafo gasoso equipado com detector de ionização de chama (FID) Thermo Scientific, modelo TRACE 1310 (EUA) e separados em um RT 2560 (100 m × 0,25 mm × 0,20 µm de filme de espessura, Restek, EUA) em coluna de cromatografia. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio com fluxo constante de 1,5 ml -1. O injetor permaneceu no modo split 20:1 e temperatura de 250°C. A temperatura no início da coluna foi de 50°C, onde permaneceu por 1 minuto, aumentando para 185 °C a taxa de 15 °C/min., após 195 °C com uma taxa de aumento de 0,5 °C/min. e depois com uma taxa de 15 °C/min. até atingir 230°C mantendo-se em isoterma por 6 min. O detector permaneceu a uma temperatura de 250 °C. Os compostos FAMA foram identificados por comparação do tempo de retenção experimental com aqueles do padrão autêntico (FAMA Mix-37, Sigma Aldrich, St). Os resultados foram apresentados como porcentagem de cada AG identificado na fração lipídica, considerando o fator equivalente de tamanho de cadeia de FAMA para FID e fator de conversão do éster no respectivo ácido, conforme Visentin *et al* (2019).

### 3.2 AVALIAÇÃO SENSORIAL DE LEITE, CREME DE LEITE E QUEIJO COLONIAL PRODUZIDOS COM LEITE DE ANIMAIS COM RAÇÃO SUPLEMENTADA

Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial da UniSenai, Campus Chapecó, e em recinto preparado para análises sensoriais e nas dependências do curso de Zootecnia da UDESC, Campus Chapecó.

Durante os testes sensoriais, 30 ml das amostras refrigeradas de leite e creme de leite (5 dias após a produção) foram servidas aos provadores, de forma monádica e balanceada, em copos plásticos codificados aleatoriamente com códigos de três dígitos. Já o queijo colonial (20 e 45 dias após a produção) foi fracionado em pedaços de 15g e servidos aos provadores em pratos plásticos codificados aleatoriamente com códigos de três dígitos. Junto com cada amostra, os provadores receberam as respectivas fichas de avaliação sensorial, conforme detalhado no Apêndice A. Aos consumidores foram pedidos para observar, cheirar e experimentar cada amostra, e, em seguida, realizar as seguintes etapas:

- (i) Avaliação dos atributos de textura, acidez, sabor e avaliação geral em cada produto através de uma escala hedônica de 9 pontos, que variou de 1 (desgostei extremamente) a 9 (gostei extremamente) (Meilgaard, *et al.*, 2006);

- (ii) Descrição da intenção de compra de cada produto, através de uma escala de 5 pontos, que variou de 1 (certamente não compararia) à 5 (certamente compraria) descrita por Dutcosky (2011);
- (iii) Descrição das amostras através do teste *check-all-that-apply* (CATA). Para este teste, utilizou-se diferentes atributos em função das características distintas dos produtos. Os atributos foram extraídos de trabalhos publicados que realizaram testes descritivos para avaliação de produtos similares (Manzocchi *et al.*, 2021; Correia *et al.*, 2020). A lista total de atributos para cada produto está disposta no Apêndice A.

Após provar todas as amostras, os consumidores responderam sobre hábitos de consumo de leite, creme e queijos, em termos de tipo de produtos consumidos e frequência de consumo.

Ambos os locais possuíam luminosidade uniforme, temperatura controlada e ausência de odores ou outras distrações aos avaliadores. Para a participação no painel da avaliação sensorial, foram convidados presencialmente estudantes, professores, técnicos administrativos e outros funcionários dos locais de teste, de ambos os sexos e maiores de idade, consumidores de lácteos, perfazendo um total de 120 provadores, que receberam e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) antes da realização dos testes (Apêndice B). Do total de provadores no primeiro teste sensorial dos leites, controle e tratado, dos cremes de leite controle e tratado e dos queijos coloniais de 20 dias de maturação, controle e tratado 37% eram do sexo masculino e 63% do sexo feminino, e a média de idade foi de  $29 \pm 8$  anos de idade. Na segunda parte do teste sensorial, que testou os queijos controle e tratado de 45 dias de maturação, 64 % dos provadores eram mulheres e 36% homens, com média de idade de  $34 \pm 9$  anos.

### 3.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

#### 3.3.1 *Análise estatística TBARS e ácidos graxos*

Para ácidos graxos e TBARS foram realizadas análise de homogeneidade de variância e normalidade de resíduos. Atendidas estas pressuposições, foram realizadas as análises de variância, com medidas repetidas no tempo. Foi considerado efeito significativo quando  $p < 0,05$ , pelo teste de Fisher-Snedecor.

#### 3.3.2 *Análise estatística do teste sensorial*

A análise estatística foi realizada em software XLSTAT (versão para Windows 2012.5, Adinsoft, Paris, França). Os dados do teste de aceitação e de intenção de compra foram analisados por análise de variância (ANOVA) e teste Tukey ao nível de significância de 5%.

Os resultados destes testes foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. A frequência de citação dos termos de CATA foi calculada para cada amostra e então o teste Q de Cochran's foi usado para identificar quais termos de CATA foram significantes, seguido do teste de Marascuilo para a comparação pareada entre os termos citados para cada amostra, ambos considerando 5% de significância (Honório *et al.*, 2021).

### 3.4 MICROBIOMA

#### 3.4.1 *Processamento de amostra, extração de DNA e Preparação de biblioteca e sequenciamento de 16S rRNA*

Para a caracterização do microbioma dos queijos realizamos a coleta de alíquotas para análise, preparação das amostras, extração de DNA, preparo de “biblioteca” metagenômica, sequenciamento do gene 16S rRNA, abundância diferencial, análises de comunidades do microbioma e as análises de dados por bioinformática, conforme descrito por Endres *et al.* (2021).

Foram utilizadas amostras do queijo aos 7, 20, 45 e 60 dias de maturação, para verificação da variabilidade entre o microbioma do produto durante o processo de maturação. As amostras foram coletadas em duplicata de cada grupo (controle e tratado), estas foram armazenadas em embalagens plásticas estéreis, identificadas e congeladas em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$ , até a extração do DNA.

As amostras de queijo foram moídas individualmente em um processador. Destes, 25 g foram retirados, diluídos em 225 ml de água destilada estéril e homogeneizados em incubadora shaker (110 rpm por 2 h em temperatura ambiente). As amostras foram filtradas com auxílio de peneira e gaze por cima para separação dos sedimentos. Um total de 35 mL do filtrado foi centrifugado a 10.000 rpm por 40 min a  $4^{\circ}\text{C}$ . O sobrenadante (30 ml) foi descartado e 3 mL de água destilada estéril foram adicionados ao pellet, que foi homogeneizado por vórtex. Em seguida, 1 ml desta solução foi adicionado a um microtubo e centrifugado a 14.000 rpm por 5 min a  $4^{\circ}\text{C}$  para formação do pellet. Em seguida os pellets foram ressuspensos para realizar a extração de DNA, utilizando-se kit Purelink Genomic DNA seguindo as instruções do fabricante. O DNA foi eluído em 25  $\mu\text{l}$  de água deionizada pura (Milli-Q) e armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise. Para geração das bibliotecas foi amplificado o domínio V4 do gene 16S rRNA bacteriano usando primers F515 (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) e R806 (GGACTACHVGGGTWTCTAAT), ambos modificados para conter uma região adaptadora Illumina (Caporaso *et al.*, 2011). A amplificação foi realizada em uma mistura de 25  $\mu\text{l}$ ,

consistindo de 12,5 ng de DNA genômico, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 µM de cada *primer*, 200 µM de cada dNTP, 2 U de *Platinum Taq DNA Polymerase Platinum* (Invitrogen™) e tampão de reação 1 X. A amplificação foi realizada em um *BioRad MyCycler Thermocycler* (BioRad, EUA) de acordo com o seguinte programa: desnaturação inicial a 94 °C por 3 min., seguido por 30 ciclos de 94 °C por 30 s, 55 °C por 30 s, 72 °C por 30 s e um ciclo final a 72 °C por 5 min. Os amplicons foram purificados usando esferas Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, Indianápolis, Indiana, Estados Unidos da América) e os índices foram adicionados às bibliotecas de DNA seguindo as instruções do fabricante (Illumina Inc., San Diego, Califórnia, Estados Unidos da América). O sequenciamento foi conduzido em um sistema Illumina MiSeq com um kit v2 de 500 ciclos emparelhado (Endres *et al* 2021).

Inicialmente realizou a análise da qualidade das reads, onde foram excluídas as quimeras que são as reads de baixa qualidade. Na sequência realizou-se o agrupamento de táxons, em que foi possível gerar gráficos de distribuição taxonômica com base nas Unidades Taxonômicas Operacionais (denominadas OTU's).

#### 3.4.2 Análise de Bioinformática

Os dados das sequências foram processados usando o *pipeline* do software *QIAGEN CLC Genomics Workbench* versão 23.0.4, conforme instruções do fabricante. Inicialmente realizou-se a análise da qualidade das reads usando o Fstq, nesta foram excluídas as leituras de baixa qualidade e sequências quiméricas. Após a etapa de trimagem e corte realizou-se o agrupamento de táxons, onde foi possível gerar gráficos de distribuição taxonômica com base nas OTU's, utilizando um nível de identidade de 99%. Sequências foram classificadas com base no banco de dados Silva v138.

Com os dados gerados foi observada as comunidades microbianas, diversidade alfa, diversidade Beta e abundância diferencial das amostras.

#### 3.4.3 Análise estatística microbioma

A diversidade alfa das amostras foi determinada com base na abundância por meio dos índices *Shannon* e *Chao1*. Para comparações estatísticas dos dados foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis. Os índices de diversidade beta foram determinados por meio da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) com base na dissimilaridade de Bray-Curtis e diversidade filogenética *Weighted UniFrac*. A ordenação da Análise de Coordenadas Principais (PCoA) foi aplicada às métricas de diversidade beta. A fim de obter confiança na análise estatística no

agrupamento amostral observado pelo PCoA, foi realizada análise de variância multivariada de permutação (PERMANOVA) na matriz de distância.

## **4 RESULTADOS**

### **4.1 RESULTADOS DE ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS**

Nas Tabelas 3, 4 e 5 são apresentados valores descritos das análises físico-químicas e microbiológicas para o leite, creme de leite e queijos produzidos com leite de vacas suplementadas ou não com OE. Os dados são descritivos devido a realização de somente duas coletas de leite por dia de coleta (exemplo: duas amostras no dia 15 e duas no dia 16), não tendo repetições suficientes para análise estatística. Os valores descritivos das análises físico/químicas e microbiológicas do leite e do creme de leite estão descritos na Tabela 4. Na Tabela 5 pode-se observar os valores das análises físico/químicas dos queijos controle e tratado e na Tabela 6 os valores das análises microbiológicas dos queijos.

*Tabela 4 - Valores descritivos das análises físico-químicas e microbiológicas do leite e do creme de leite obtidos de vacas Jersey alimentadas ou não com óleos essenciais à base de eucalipto e menta.*

Análises	Controle	Tratado	Legislação
<i>Leite, físico-químicas</i>			
Densidade (g/ml)	1,032	1,033	à 15°C entre 1,028 e 1,034
Extrato seco desengordurado (g/100g)	8,80	9,45	Min. 8,4g/100g
Extrato seco total (g/100g)	12,51	13,35	Min. 11,4g/100g
Lipídios totais (g/100g)	3,70	3,90	Mín. 3,0g/100g
Índice crioscópico	-530°C	-523°C	-0,512°C a -0,536°C
Proteína total (g/100g)	3,40	3,53	min. 2,9g/100g
Acidez (g/100ml)	0,13	0,13	0,14 e 0,18 g ác. Lát./100 ml
<i>Leite, análise microbiológica</i>			
Contagem total de Enterobactérias	1,0x10 <sup>+0</sup>	1,0x10 <sup>+0</sup>	10 UFC/ml
<i>Creme de leite, físico-químicas</i>			
Acidez (g/100ml)	0,07	0,07	Max. 0,2 g de ác. Lát./ 100g
Lipídios totais (g/100g)	52,66	52,68	50 % (m/m) g /100g
Proteína total (g/100g)	2,12	2,20	1,84 a 3,10*
Cinzas (mg/100 g)	0,39	0,39	0,300 mg/100 g*
<i>Creme de leite, análises microbiológicas</i>			
Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	<1,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	10 <sup>2</sup>
Contagem de bolores e leveduras	3,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	10 <sup>4</sup>
Deteção de <i>Salmonella spp.</i>	Ausência	Ausência	Ausente
Contagem Total de <i>Escherichia coli</i>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	10
Deteção de enterotoxinas estafilocócicas	Ausência	Ausência	Ausente

Fonte da legislação: Instrução Normativa MAPA - 76, de 26/11/2018; Instrução Normativa MAPA - 58, de 06/11/2019; Portaria MARA 146/1996 (D.O.U. 11/03/1996); INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN Nº 161, DE 1º DE JULHO DE 2022. \*Oliveira *et al.* (2010).

*Tabela 5 - Valores descritivos das análises físico-químicas e microbiológicas do Queijo Colonial obtido a partir do leite de vacas Jersey alimentadas ou não com óleos essenciais à base de eucalipto e menta, aos 7, 20 e 45 dias de maturação.*

Tempo de maturação	7 dias		20 dias		45 dias		Padrão da legislação¹
Tratamentos	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado	
Análises Físico-químicas							
Umidade	47,34	46,74	37,82	34,55	35,61	34,50	35,38 - 81,08%
Proteína	19,00	18,91	23,59	23,15	25,07	23,36	10,97-27,37g/100g*
pH	5,49	5,53	5,71	6,08	5,78	5,74	4,95-6,95
Cinzas	3,65	4,27	4,28	5,06	4,52	5,24	0,84-4,32*
Lípídeos totais	28,00	28,50	32,50	35,25	33,50	34,00	25,0 e 44,9%
Cor instrumental							
L*	74,89	75,17	90,03	90,05	90,09	90,05	n.d.
a*	-0,29	-0,76	-0,55	-0,56	-0,55	-0,55	n.d.
b*	12,83	10,82	0,38	0,38	0,39	0,38	n.d.

<sup>1</sup>Portaria SAR Nº 32 DE 07/11/2018; \* Tavares *et al.*, 2019.

*Tabela 6 - Valores descritivos das análises microbiológicas do Queijo Colonial obtido a partir do leite de vacas Jersey alimentadas ou não com óleos essenciais à base de eucalipto e menta, aos 7, 20 e 45 dias de maturação.*

Análises	7 dias		20 dias		45 dias		Padrão da legislação*
	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado	
Bolores e Leveduras	3,0x10 <sup>+1</sup>	1,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	3,0x10 <sup>+1</sup>	1,0x10 <sup>+2</sup>	2,5x10 <sup>+1</sup>	5x10 <sup>3</sup>
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	<1,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	10 <sup>3</sup>
<i>Salmonella</i> spp.	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausente
<i>Escherichia coli</i>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	<1,0x10 <sup>+1</sup>	10 <sup>3</sup>
Enterotoxinas Estafilócicas	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausente

\*INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN Nº 161, DE 1º DE JULHO DE 2022.

Fonte: Elaborada pelos autores.

Os valores das análises de oxidação lipídica dos queijos provenientes dos tratamentos foram mensurados aos 7, 20 e 45 dias de maturação e estão expressos na Tabela 7.



*Tabela 7 - TBARS do Queijo Colonial obtido a partir do leite de vacas Jersey alimentadas ou não com óleos essenciais à base de eucalipto e menta, aos 7, 20 e 45 dias de maturação.*

TBARS	Tratamentos		P – values	
	Controle	Tratado	Trat	Trat × Dia
d7	0,1235	0,1230	0,0106	<b>0,0003</b>
d20	0,1525	0,1625		
d45	0,1585 <sup>A</sup>	0,1300 <sup>B</sup>		
Média	0,1448	0,1385		

Fonte: Elaborada pelos autores.

Médias seguidas de letras distintas nas linhas se diferenciam pelo teste Fisher-Snedecor (5%).

Para avaliarmos os efeitos da utilização dos OE na dieta das vacas sobre a composição da gordura do leite, foi feita a análise dos ácidos graxos dos queijos controle e tratado aos 8, 20, 45 e 60 dias de maturação.

*Tabela 8 - Perfil de ácidos graxos do Queijo Colonial obtido a partir do leite de vacas Jersey alimentadas ou não com óleos essenciais à base de eucalipto e menta, aos 7, 20, 45 e 60 dias de maturação.*

Ácidos graxos	Tratamento	Dia 7	Dia 20	Dia 45	Dia 60	Média	P-valor com OE	P-valor OE x DIA
C4:0 (Butyric %)	Controle	0,6822	0,5322	0,6639	0,6638	0,6355	0,1054	0,4579
	Tratado	0,7173	0,6995	0,6974	0,685	0,6998		
C6:0 (Caproic %)	Controle	0,8487	0,7352	0,8161	0,8234	0,8058	0,0652	0,3553
	Tratado	0,869	0,8835	0,8583	0,8455	0,8641		
C8:0 (Caprylic %)	Controle	0,7339	0,6884	0,72	0,7234	0,7164 <sup>b</sup>	<b>0,013</b>	0,3654
	Tratado	0,7616	0,7705	0,7585	0,7403	0,7577 <sup>a</sup>		
C10:0 (Capric %)	Controle	2,3235	2,2938	2,2947	2,3071	2,3048	0,0918	0,732
	Tratado	2,3364	2,3915	2,3841	2,344	2,364		
C12:0 (Lauric %)	Controle	3,2349	3,2128	3,2734	3,1992	3,2301	0,3633	0,5915
	Tratado	3,1937	3,2196	3,1739	3,2113	3,1996		
C14:0 (Myristic %)	Controle	11,3354	11,4253	11,3741	11,4075	11,3856 <sup>b</sup>	<b>0,017</b>	0,9475
	Tratado	11,4407	11,6136	11,5412	11,5696	11,5413 <sup>a</sup>		
C14:1 (Myristoleic %)	Controle	0,6664	0,6721	0,6978 <sup>a</sup>	0,6526	0,6722	0,0018	<b>0,0477</b>
	Tratado	0,6535	0,6651	0,6474 <sup>b</sup>	0,6355	0,6504		
C15:0 (Pentadecanoic %)	Controle	1,0117	1,0062	1,0389	1,0079	1,0162	0,0989	0,466
	Tratado	0,9754	1,0025	0,9936	1,0066	0,9946		
C16:0 (Palmitic %)	Controle	38,8453	39,0837	38,9532	39,1671 <sup>a</sup>	39,0124	0,3008	<b>0,014</b>
	Tratado	38,9404	39,1808	39,0668	38,4594 <sup>b</sup>	38,9119		
C16:1 (Palmitoleic %)	Controle	1,2270 <sup>a</sup>	1,2243 <sup>a</sup>	1,2875 <sup>a</sup>	1,2201 <sup>a</sup>	1,2397	<0,0001	<b>0,0164</b>
	Tratado	0,9954 <sup>b</sup>	1,0045 <sup>b</sup>	0,9867 <sup>b</sup>	0,9788 <sup>b</sup>	0,9914		

Continua...

Ácidos graxos	Tratamento	Dia 7	Dia 20	Dia 45	Dia 60	Média	P-valor com OE	P-valor OE x DIA
C17:0 (Heptadecanoic %)	Controle	0,4800 <sup>b</sup>	0,4824 <sup>b</sup>	0,4971	0,4784 <sup>b</sup>	0,4845	<0,0001	<b>0,0013</b>
	Tratado	0,5068 <sup>a</sup>	0,4974 <sup>a</sup>	0,5026	0,5026 <sup>a</sup>	0,5017		
C17:1 (cis-10-Heptadecenoic %)	Controle	0,1593	0,155	0,1657	0,1488	0,1572 <sup>a</sup>	<b>0,0003</b>	0,1115
	Tratado	0,1254	0,1401	0,1408	0,1401	0,1366 <sup>b</sup>		
C18:0 (Stearic %)	Controle	13,2662	13,4209	13,7374	13,1545 <sup>b</sup>	13,3848	0,002	<b>0,001</b>
	Tratado	13,6508	13,4373	13,5376	14,1747 <sup>a</sup>	13,7001		
C18:1n9t (Elaidic %)	Controle	2,7165	2,6643	2,6416	2,7507	2,6933 <sup>b</sup>	<b>0,0127</b>	0,1011
	Tratado	2,7703	2,6367	2,834	2,9748	2,8040 <sup>a</sup>		
C18:1n9c (Oleic %)	Controle	18,3271	18,294	18,4527	18,1669	18,3102 <sup>a</sup>	<b>0,0004</b>	0,7662
	Tratado	17,8971	17,7004	17,7782	17,7146	17,7726 <sup>b</sup>		
C18:2n6c (Linoleic %)	Controle	2,6243	2,6095	2,515	2,6233 <sup>a</sup>	2,5931	0,4544	<b>0,0314</b>
	Tratado	2,6126	2,6257	2,5764	2,5027 <sup>b</sup>	2,5794		
C20:0 (Arachidic %)	Controle	0,1933	0,1869	0,1963	0,1895	0,1915 <sup>b</sup>	<b>0,0072</b>	0,3242
	Tratado	0,2009	0,1957	0,1975	0,203	0,1993 <sup>a</sup>		
C18:3n6 (Linolenic %)	Controle	0,024	0,0261	0,0256	0,0249	0,0252 <sup>b</sup>	<b>0,0041</b>	0,2705
	Tratado	0,0283	0,027	0,0266	0,0292	0,0280 <sup>a</sup>		
C20:1n9 (cis-11-Eicosenoic %)	Controle	0,0467	0,0492	0,0479	0,0491	0,0482	0,6386	0,9208
	Tratado	0,0487	0,0495	0,0478	0,0492	0,0488		
C18:3n3 (α-Linolenic %)	Controle	0,2851	0,2835	0,2684	0,2953 <sup>a</sup>	0,2831	0,212	<b>0,0002</b>
	Tratado	0,2887	0,2902	0,2804	0,2624 <sup>b</sup>	0,2804		
C21:0 (Henicosanoic %)	Controle	0,4581	0,4366	0,4303	0,4388	0,4409	0,8461	0,6016
	Tratado	0,4547	0,4314	0,4348	0,4458	0,4417		

Continua...

Ácidos graxos	Tratamento	Dia 7	Dia 20	Dia 45	Dia 60	Média	P-valor com OE	P-valor OE x DIA
C20:2 (cis-11,14-Eicosadienoic %)	Controle	0,0296	0,0325	0,033	0,0322	0,0318 <sup>b</sup>	<b>0,0316</b>	0,11
	Tratado	0,0329	0,0341	0,0325	0,0329	0,0331 <sup>a</sup>		
C22:0 (Behenic %)	Controle	0,0748	0,0769	0,0749	0,0768	0,0758 <sup>b</sup>	<b>0,0319</b>	0,9051
	Tratado	0,0781	0,0784	0,0774	0,0804	0,0786 <sup>a</sup>		
C20:3n6 (cis-8,11,14-Eicosatrienoic %)	Controle	0,0942 <sup>b</sup>	0,0945 <sup>b</sup>	0,0985	0,0938 <sup>b</sup>	0,0952	<0,0001	<b>0,0002</b>
	Tratado	0,0993 <sup>a</sup>	0,1001 <sup>a</sup>	0,1004	0,1058 <sup>a</sup>	0,1014		
C22:1n9 (Erucic %)	Controle	0,008	0,0082	0,0085	0,0078	0,0081	0,2961	0,3301
	Tratado	0,0079	0,0086	0,0071	0,0072	0,0077		
C20:3n3 (cis-11,14,1-Eicosatrienoic %)	Controle	0,0033	0,0037	0,0036	0,0033	0,0034	0,7195	0,74
	Tratado	0,0034	0,0035	0,0035	0,0035	0,0035		
C20:4n6 (Arachidonic %)	Controle	0,0269 <sup>b</sup>	0,0277 <sup>b</sup>	0,0264 <sup>b</sup>	0,0293	0,0276	<0,0001	<b>0,0217</b>
	Tratado	0,0297 <sup>a</sup>	0,0312 <sup>a</sup>	0,0310 <sup>a</sup>	0,0308	0,0307		
C22:2 (cis-13,16-Docosadienoic %)	Controle	0,0111	0,0101 <sup>b</sup>	0,0083 <sup>b</sup>	0,0117 <sup>a</sup>	0,0103	0,0224	<b>&lt;0,0001</b>
	Tratado	0,0106	0,0114 <sup>a</sup>	0,0103 <sup>a</sup>	0,0071 <sup>b</sup>	0,0098		
C24:0 (Lignoceric %)	Controle	0,0384	0,0396	0,0385	0,0397	0,0391 <sup>b</sup>	<b>&lt;0,0001</b>	0,273
	Tratado	0,0421	0,0423	0,0425	0,0435	0,0426 <sup>a</sup>		
C20:5n3 cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic %	Controle	0,0214	0,0219	0,0239	0,0219	0,0223 <sup>a</sup>	<b>0,0178</b>	0,3885
	Tratado	0,0205	0,0205	0,0196	0,0201	0,0202 <sup>b</sup>		
C24:1n9 (Nervonic %)	Controle	0,0049	0,005	0,0053	0,0046	0,0049 <sup>b</sup>	<b>&lt;0,0001</b>	0,1571
	Tratado	0,0054	0,0061	0,006	0,0054	0,0057 <sup>a</sup>		
SFA	Controle	73,7239	73,8182	74,3101	73,8635	73,9290 <sup>b</sup>	<b>0,0301</b>	0,7335
	Tratado	74,3699	74,6443	74,471	74,4997	74,4963 <sup>a</sup>		

Continua...

<i>Ácidos graxos</i>	<i>Tratamento</i>	<i>Dia 7</i>	<i>Dia 20</i>	<i>Dia 45</i>	<i>Dia 60</i>	<i>Média</i>	<i>P-valor com OE</i>	<i>P-valor OE x DIA</i>
<i>UFA</i>	<i>Controle</i>	26,276	26,1817	25,6898	26,1365	26,0710 <sup>a</sup>	<b>0,0301</b>	0,7335
	<i>Tratado</i>	25,63	25,3556	25,5289	25,5002	25,5037 <sup>b</sup>		
<i>MUFA</i>	<i>Controle</i>	23,156	23,0721	22,6868	23,0007	22,9789 <sup>a</sup>	<b>0,0389</b>	0,8025
	<i>Tratado</i>	22,5039	22,2111	22,4482	22,5057	22,4173 <sup>b</sup>		
<i>PUFA</i>	<i>Controle</i>	3,12	3,1096	3,003	3,1357 <sup>a</sup>	3,0921	0,7695	<b>0,0158</b>
	<i>Tratado</i>	3,1261	3,1444	3,0807	2,9945 <sup>b</sup>	3,0864		
<i>UFA/SFA</i>	<i>Controle</i>	0,3564	0,3547	0,3458	0,3538	0,3527 <sup>a</sup>	<b>0,0294</b>	0,7387
	<i>Tratado</i>	0,3446	0,3397	0,3428	0,3423	0,3424 <sup>b</sup>		
$\Sigma \omega 6$	<i>Controle</i>	2,7695	2,7579	2,6656	2,7713	2,7411	0,9253	0,0521
	<i>Tratado</i>	2,77	2,7846	2,7344	2,6686	2,7394		
$\Sigma \omega 3$	<i>Controle</i>	0,3098	0,3091	0,296	0,3205 <sup>a</sup>	0,3089	0,2843	<b>0,0215</b>
	<i>Tratado</i>	0,3126	0,3142	0,3035	0,2860 <sup>b</sup>	0,3041		
$\omega 6/\omega 3$	<i>Controle</i>	8,9446	8,9226	9,0052	8,6447 <sup>b</sup>	8,8793	0,0991	<b>0,0167</b>
	<i>Tratado</i>	8,8613	8,8622	9,0092	9,3310 <sup>a</sup>	9,016		

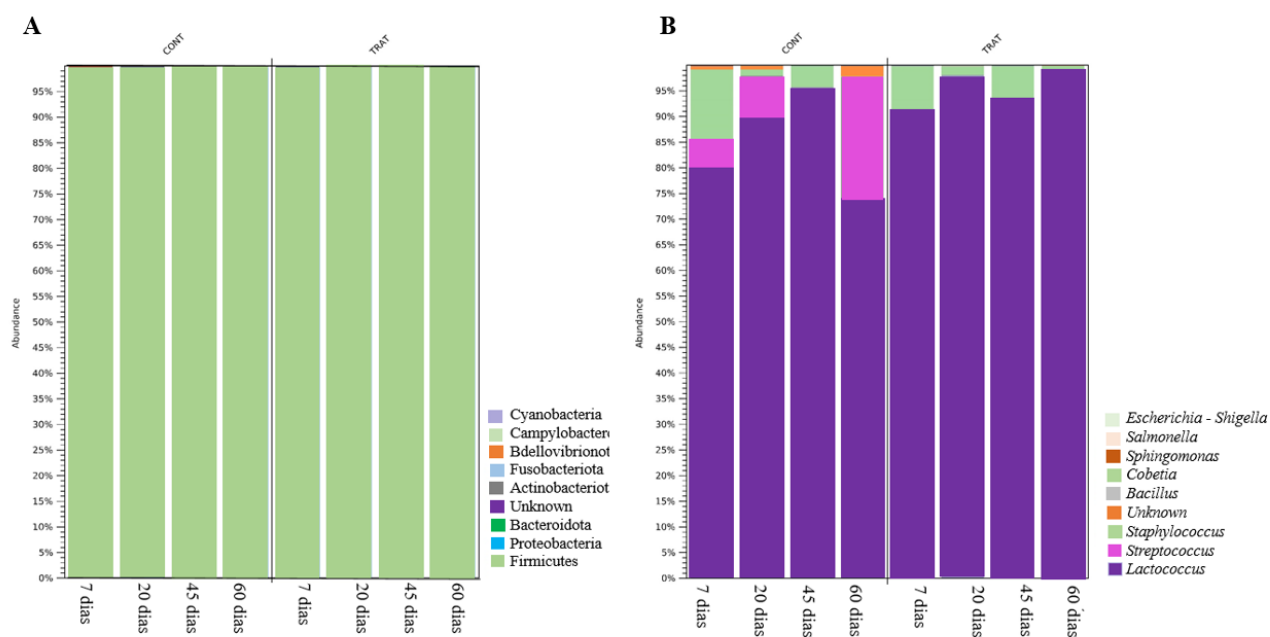
Médias seguidas de letras distintas nas linhas se diferenciam pelo teste Fisher-Snedecor (5%).

## 4.2 RESULTADOS MICROBIOMA

A composição microbiana do queijo foi investigada por meio do sequenciamento da região hipervariável V4 do gene 16S rRNA. Um total de 4.561 OTU's foram obtidas para as 8 amostras, sendo 4 amostras de queijo produzidos através do leite do grupo controle e 4 amostras produzidas a partir do leite do grupo tratamento. As curvas de rarefação mostraram saturação para ambos os tipos de amostras, indicando cobertura de sequenciamento suficiente para estimar a composição e diversidade microbiana.

Ao avaliar a abundância relativa ao nível de significância de 5% não foi observado diferença entre o grupo tratado e controle. O filo de maior abundância nas amostras foram *Firmicutes* (Figura 4). A classes abundante em ambas as amostras foram *Bacilli*. No nível de ordem, *Lactobacillales* e *Staphylococcales* foram observados em maior abundância. As famílias mais abundantes nas amostras de leite sem OE e com OE foram *Streptococcaceae* e *Staphylococcaceae*. Os gêneros mais abundantes foram *Lactococcus*, *Streptococcus* e *Staphylococcus spp.* (Figura 4).

*Figura 4 - Representação da abundância relativa de táxons bacterianos com base no sequenciamento do gene 16S rRNA no nível de gênero em amostras de queijo produzido com leite do grupo controle e tratado. As barras verticais indicam a abundância relativa média de sequências bacterianas nas amostras A (Filo) e B (Gênero). As strings que não puderam ser atribuídas são coloridas em laranja e rotuladas como “desconhecidas”.*



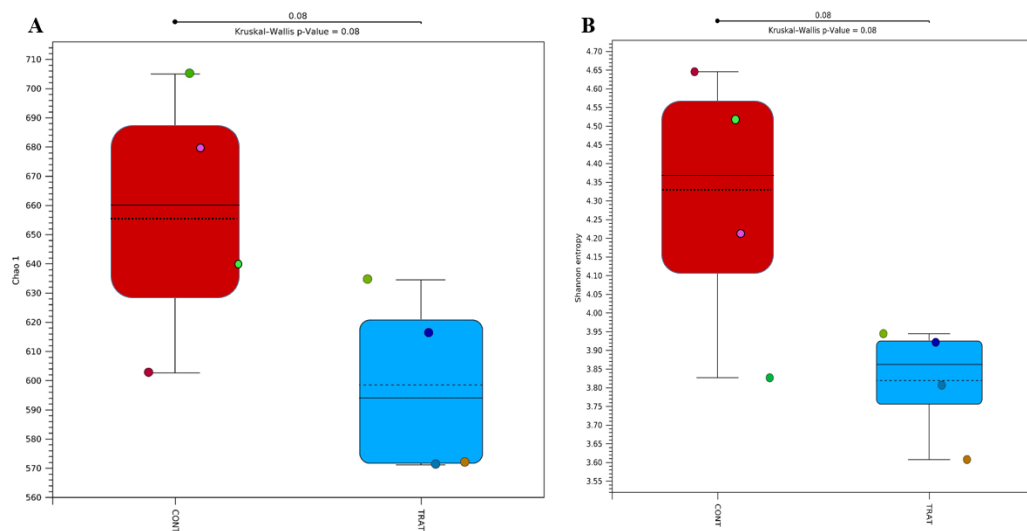
*Lactococcus* foi o gênero mais frequente nas amostras de leite controle e tratado, assim como o *Staphylococcus* spp. O gênero *Streptococcus* foi observado somente nas amostras de queijo produzido com leite controle.

Em relação às espécies, apenas algumas foram identificadas no presente estudo. Isso porque o sequenciamento parcial do gene 16S rRNA não possui resolução suficiente para identificar um grande número de espécies (Johnson *et al.*, 2019). A partir de amostras de leite controle e tratado foi possível identificar *Staphylococcus equorum*, *Streptococcus salivarius* e *Lactococcus lactis*.

#### 4.2.1 Alpha Diversidade

Os dados de diversidade alfa foram estimados usando os índices Chao1 e Shannon (Figura 5). Em relação à diversidade do queijo colonial, não foram observadas diferenças entre as amostras de queijo controle e tratado ( $p > 0,05$ ).

Figura 5 - Métricas de diversidade alfa com amostras de leite controle e tratado. Riqueza medida pelo índice Chao1 (A), pelo índice Shannon (B).



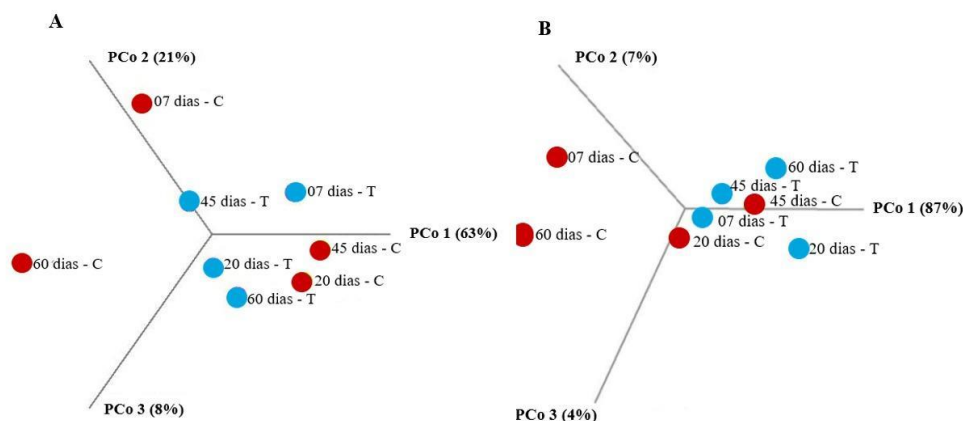
Fonte: Elaborado pelos autores

### 4.2.2 Beta Diversidade

A diversidade beta avalia a diversidade de OTU's entre diferentes amostras. Com base na abundância relativa de OTU's sequenciadas, o PCoA foi usado para analisar diferenças na composição de comunidades microbianas das amostras de leite tratado e controle usando o método *Bray-Curtis* e *UniFrac* ponderado (Figura 6).

No presente estudo, não foram observadas diferenças significativas na composição microbiana entre o grupo controle e o tratado com OE, com valores de p de 0,22 para *Bray-Curtis* e 0,11 para *UniFrac*. Além disso, o período de maturação não apresentou diferenças significativas.

Figura 6- Métricas de diversidade beta com amostras de leite controle e tratado. *Bray-Curtis* (A), pelo *Unifrac* (B).

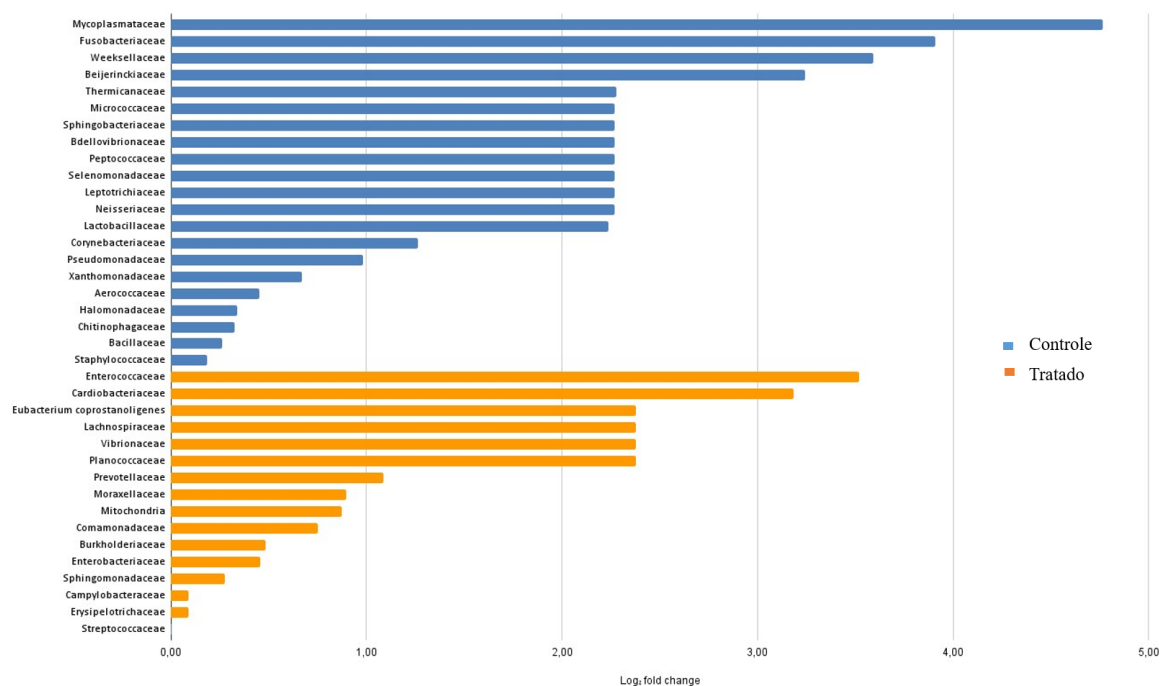


### 4.2.3 Abundância diferencial

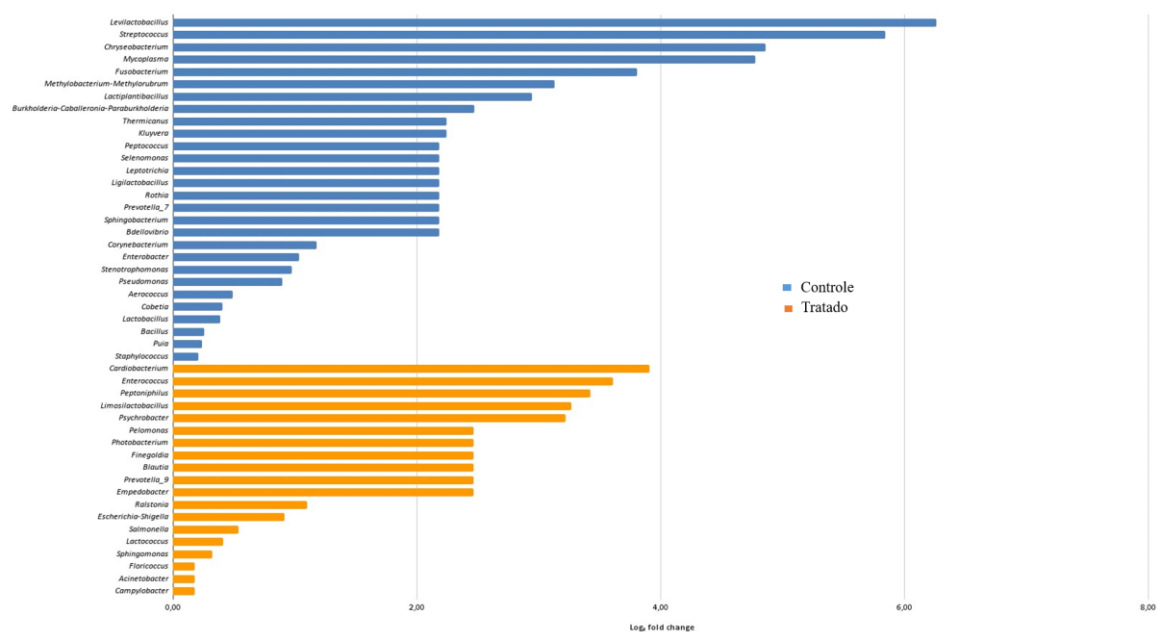
Em relação a abundância diferencial foi observado menor abundância nas amostras de queijo produzido com leite tratado (Figura 7).



*Figura 7- Log2 fold-change: proporção de abundância diferencial ano nível de família em amostras de queijo produzidas com leite controle (azul) em comparação com queijos produzidos com leite tratado adicionado de óleos essenciais (laranja).*



*Figura 8- Log2 fold-change: proporção de abundância diferencial ano nível de Gênero em amostras de queijo produzidas com leite controle (azul) em comparação com queijos produzidos com leite tratado adicionado de óleos essenciais (laranja).*



### 4.3 RESULTADOS ANÁLISES SENSORIAIS

#### 4.3.1 Leite

Os participantes do teste foram caracterizados em relação aos hábitos e frequência de consumo de leite, sendo que a maioria declarou consumir a versão integral (78%) e mais de uma vez por semana (65%), mostrando que é um produto de alta frequência de consumo.

Em termos hedônicos, não foram observadas diferenças na aceitação das amostras controle e tratada em relação à textura ( $7,1 \pm 1,6$  vs.  $7,4 \pm 1,6$ ) e acidez ( $6,6 \pm 2,2$  vs.  $7,0 \pm 2,1$ ). Por outro lado, na aceitação do sabor ( $6,6 \pm 1,8$  vs.  $7,4 \pm 1,5$ ) e na avaliação geral ( $6,9 \pm 1,7$  vs.  $7,4 \pm 1,7$ ), a amostra tratada foi melhor avaliada ( $P < 0,05$ ). Apesar destas diferenças, a intenção de compra dos produtos oriundos de leite controle e tratado, em relação à textura (24 vs. 39), sabor (37 vs. 35), acidez (22 vs. 17) e avaliação geral (17 vs. 9)  $P = 0,081$  demonstrando diferença na margem significativa para intenção de compra.

Os resultados do Teste CATA do leite (Tabela 9) mostrou que as amostras de controle e tratado foram descritas de forma semelhante para a maioria dos termos, sendo percebidos (maiores % de citação) como produtos com sabor de leite vendido em supermercado, leite cru e gosto doce ( $> 23\%$  de citação para todos os termos e produtos). Apesar da semelhança em relação aos termos mais citados, o leite dos animais que receberam os OE foi mais percebido como doce (40 vs. 25% das respostas,  $P = 0,004$ ). Além disso, observou-se diferença na citação do termo aguado ( $P = 0,040$ ) e uma diferença marginal na citação do atributo opaco ( $P = 0,071$ ), sendo o produto de animais que receberam os OE percebido como mais opaco e menos aguado do que o controle.

Os resultados dos testes CATA para o leite e creme de leite estão expressos na Tabela 9 a seguir.

Tabela 9 - Teste CATA para leite e creme de leite

Atributos	Leite			Creme de leite		
	Controle	Tratado	p-valores	Controle	Tratado	p-valores
Sabor de ervas	0,035	0,014	0,257	0,021	0,014	0,655
Doce	0,246 <sup>a</sup>	0,401 <sup>b</sup>	<b>0,004</b>	0,261	0,232	0,505
Sabor á pasto/campo	0,120	0,077	0,201	0,028	0,042	0,527
Sabor estranho	0,141	0,085	0,144	0,077	0,070	0,819
Brilhante	0,106	0,134	0,346	0,085	0,092	0,782
Leite cru	0,275	0,239	0,435	0,303	0,254	0,307
Gorduroso	0,134	0,085	0,178	0,324	0,338	0,773
Gosto amargo	0,035	0,021	0,480	0,021	0,014	0,655
Curral/silagem	0,028	0,021	0,705	0,007	0	0,317
Ácido	0,014	0,028	0,414	0,014	0,021	0,655
Rançoso	0,042	0,021	0,317	0,035	0,007	0,102
Neutro	0,134	0,204	0,123	0,099	0,120	0,513
Leite vendido em supermercado	0,268	0,324	0,317	n.d.	n.d.	n.d.
Opaco	0,063	0,113	0,071	n.d.	n.d.	n.d.
Aguado	0,190 <sup>a</sup>	0,106 <sup>b</sup>	<b>0,040</b>	n.d.	n.d.	n.d.
Amarelo	n.d.	n.d.	n.d.	0,049	0,035	0,564
Manteiga	n.d.	n.d.	n.d.	0,197	0,176	0,590
Homogêneo	n.d.	n.d.	n.d.	0,190	0,225	0,369
Cremoso	n.d.	n.d.	n.d.	0,394	0,493	0,075
Creme de leite vendido supermercado	n.d.	n.d.	n.d.	0,190 <sup>b</sup>	0,317 <sup>a</sup>	<b>0,005</b>

n.d. = não determinado.

#### 4.3.2 Creme de leite

A avaliação dos hábitos dos participantes do teste em relação ao consumo de creme de leite mostrou que os mesmos, em sua maioria, consomem o produto na versão integral (84%) e que têm uma frequência de consumo variada entre mais de uma vez por semana (11%), uma vez por semana (39%), uma vez ao mês (38%) e raramente (12%).

A avaliação hedônica das amostras de creme de leite por estes provadores mostrou que, em termos de textura, as amostras com OE foram preferidas ( $7,4 \pm 1,4$ ) em relação à amostra sem OE ( $6,7 \pm 1,9$ ) ( $P < 0,05$ ). Para os demais parâmetros hedônicos, por outro lado, os resultados foram similares ( $P > 0,05$ ), com pontuações para amostra tratada e controle, respectivamente, de  $7,4 \pm 1,5$  e  $7,1 \pm 1,7$  para sabor, de  $6,9 \pm 2,1$  e  $6,7 \pm 2,1$  para acidez e de  $7,4 \pm 1,4$  e  $7,1 \pm 1,6$ . Similarmente, não foram observadas diferenças na intenção de compra das amostras (limite de corte  $> 0,05$ ), sendo que 35% dos consumidores responderam que “certamente comprariam” e menos de 14% responderam que “provavelmente ou não comprariam” as amostras, indicando um adequado nível de aceitação dos produtos.

Os resultados do teste CATA (Tabela 8) mostram que os produtos foram descritos de forma similar, sem diferença de citação para quase todos os atributos avaliados. Os cremes de leite foram majoritariamente associados com os atributos leite cru (citado por > 25% dos participantes), gorduroso (citado por mais de 32% dos participantes) e cremoso (citado por 39% dos participantes para amostra sem O.E e por 49% dos participantes para amostra com OE), sendo este último atributo marginalmente significativo ( $P = 0,075$ ). Além disso, surpreendentemente, o creme de leite oriundo destes animais foi mais percebido como similar ao creme de leite comercial ( $P = 0,005$ ).

#### 4.3.3 *Queijo colonial*

A avaliação sensorial do Queijo Colonial ocorreu após 20 e aos 45 dias de maturação. A avaliação da percepção e hábitos de consumo de queijo pelos provadores participantes do teste mostraram que a maioria prefere semi-gordos (74%), de textura que varia entre semi-macia (42%), firme (31%) ou macia (27%), com sabor levemente marcante (61%) e do tipo colonial (67%). Além disso, 70% dos provadores da pesquisa declararam consumir queijo mais de uma vez por semana (70%), sendo, portanto, um produto de consumo habitual.

A avaliação da aceitação dos produtos em termos de textura (controle 8 e tratado 7,9, sabor (controle 7,6 e tratado 7,6), acidez (controle 6,8 e tratado 7,0) e avaliação geral (controle 7,7 e tratado 7,7) não mostrou diferenças estatísticas entre as amostras controle e tratada no mesmo tempo de maturação e nem em relação à mesma amostra avaliada em diferentes tempos de maturação. Similarmente, não foram observadas diferenças na intenção de compra entre as amostras após 20 e 45 dias de maturação (ponto de corte >0,05), sendo que >57% (controle) e >57% (tratado) dos provadores declararam que certamente ou provavelmente comprariam os produtos nos diferentes tempos, respectivamente.

Na Tabela 10 podemos observar o resultado do teste CATA para os queijos com 20 e 45 dias de maturação.

*Tabela 10 - Teste de Cochran para cada atributo (TESTE CATA) – Dias 20 e 45 de maturação*

Atributos	20 dias de maturação			45 dias de maturação		
	controle	Tratado	p-valores	Controle	Tratado	p-valores
Queijo fresco	0.362	0.397	0,466	0.342	0.316	0,631
Fermentado	0.121	0.106	0,655	0.140	0.114	0,467
Gorduroso	0.064	0.099	0,225	<b>0.079<sup>a</sup></b>	<b>0.149<sup>b</sup></b>	<b>0,021</b>
Gosto amargo	0.092	0.142	0,127	0.123	0.184	0,178
Curral/silagem	0.021	0.014	0,655	0.009	0	0,317
Ácido	0.234	0.241	0,873	0.228	0.211	0,732
Rançoso	0.007	0.007	1,000	0.044	0.009	0,102
Maturado	0.106	0.121	0,683	0.237	0.254	0,655
Sabor de ervas	0.007	0.007	1,000	0.018	0.053	0,157
Picante	0.092	0.057	0,197	<b>0.044<sup>a</sup></b>	<b>0.105<sup>b</sup></b>	<b>0,035</b>
Queijo colonial comum	0.404	0.383	0,680	0.421	0.368	0,330
Sabor à pasto/campo	0.064	0.021	0,058	0.044	0.044	1,000
Amarelo	<b>0.071<sup>a</sup></b>	<b>0.128<sup>b</sup></b>	<b>0,046</b>	0.035	0.053	0,414
Homogêneo	0.184	0.177	0,819	0.333	0.351	0,715
Creoso	0.440	0.376	0,170	0.421	0.474	0,317

Fonte: Elaborado pelos autores

A avaliação das respostas no teste CATA das amostras de queijos produzidas com leite de animais com e sem suplementação com OE após 20 e 45 dias de maturação mostrou que os produtos foram percebidos como similares em relação a maioria dos atributos avaliados. Além disso, observa-se que eles foram percebidos (maiores % de citação) como produtos com sabor de queijo fresco, queijo colonial comum e queijo cremoso (citados por mais de 36% dos participantes para ambos os produtos) após 20 dias de maturação. Após 45 dias de maturação, além destes atributos observados na avaliação com 20 dias, os queijos também passaram a ser reconhecidos como homogêneos (> 33% das citações) e queijo maturado (> 23% das citações), novamente sem diferença significativa entre os produtos. Apesar da semelhança em relação aos termos mais citados, o queijo de 20 dias de maturação produzido a partir do leite dos animais que receberam os OE foi percebido como mais amarelo (13 vs. 7% das respostas,  $p=0,046$ ). Já para as amostras com 45 dias de maturação, observou-se que o queijo do leite dos animais que receberam os OE foi mais descrito pelo atributo gorduroso (15 vs. 8%,  $p=0,021$ ) e picante (10 vs. 4%,  $p=0,035$ ), ainda que a citação dos 2 atributos tenha sido relativamente baixa (< 15% dos participantes).

Vale ressaltar que termos que denotariam transferência de sabor estranho para o produto em função da adição de óleo de eucalipto na ração (sabor à pasto/ campo, sabor estranho, curral/silagem, sabor de ervas) foram citados por menos de 5% dos participantes e sem diferença entre as amostras, comprovando que os aromas/sabores do óleo não foram

transferidos de forma perceptível diretamente para a gordura do leite. Por outro lado, a maior citação dos atributos picante e gorduroso após 45 dias de maturação talvez sugira que, ao longo da maturação, as diferenças geradas pela alimentação do rebanho se tornem mais perceptíveis, sem, contudo, afetar a aceitação do queijo produzido.

## 5 DISCUSSÃO

As análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas anteriormente à realização das análises sensoriais. Os parâmetros de densidade, extrato seco desengordurado, extrato seco total, lipídios totais, índice crioscópico, proteína total e acidez avaliados no leite ficaram dentro do proposto pela legislação IN 76 de 2018 e pelo Decreto 2.197 de 2022 tanto para o leite controle quanto para o tratamento, seguindo os valores estabelecidos pela legislação brasileira em vigor, assim como valores dos testes microbiológicos de contagem de enterobactérias. Os grupos (controle e tratado) aparentemente não variaram entre si e nem em relação aos valores da legislação.

A densidade dos leites controle e tratamento aparentemente não se mostraram diferentes entre si. A utilização dos OE na dieta de vacas leiteiras não acarretou mudanças aparentes na densidade do leite produzido pelos animais. Estudos com OE com princípio ativo carvacrol, encontrado no orégano; o cinamaldeído, encontrado na canela; e o eugenol, encontrado no cravo, oleoresina de pimenta também não mostraram mudanças na densidade do leite após a adição dos OE na dieta das vacas (Campanha *et al.*, 2023). De acordo com a Instrução Normativa 76 de 2019, a densidade do leite integral deve estar dentro de 1,028 a 1,034 g/cm<sup>3</sup>. Desse modo, na análise da densidade encontrada no estudo em questão ficou dentro dos parâmetros da legislação, tanto para o leite controle (1,032 g/cm<sup>3</sup>) quanto para o tratamento (1,033 g/cm<sup>3</sup>) (Tabela 4).

Os valores de extrato seco desengordurado (ESD) não diferiram entre si, demonstrando que a adição dos OE de eucalipto e menta na dieta das vacas não modificou os valores do ESD. O leite controle apresentou o valor de ESD de 8,80% e o leite com OE de 9,45% ficando dentro dos parâmetros estabelecidos pela legislação IN 76 de 2018. O teor de ESD no leite está relacionado com a dieta, as variações nos alimentos volumosos e concentrados, em função das estações do ano, podem acarretar mudanças nos parâmetros de ESD do leite (Campanha *et al.*, 2023).

Os sólidos totais dos leites controle e tratado não diferiram entre o leite controle (12,51%) e o tratado (13,35%), demonstrando que a adição dos OE na dieta das vacas não

modificou os valores dos sólidos totais, e tanto o grupo controle quanto o tratado ficaram dentro dos parâmetros da legislação (IN 76 de 2018, Brasil, 2018). O mesmo ocorreu com os teores de lipídeos e índice crioscópico.

Quanto aos teores de proteínas dos leites controle e tratado não variaram aparentemente entre si, e se mantiveram dentro dos parâmetros da legislação, a qual exige o mínimo de 2,9 g/100 ml de proteína no leite (IN 76 de 2018). Estudos anteriores com OE de orégano, pimenta, cravo, canela e orégano obtiveram resultados estatisticamente semelhantes, demonstrando que estes óleos não trouxeram mudanças à proteína do leite (Campanha *et al.*, 2023).

Os parâmetros de acidez, lipídeos totais, proteína total e cinzas avaliados no creme de leite ficaram dentro do proposto pela legislação IN 76 de 2018 e decreto 2.197 de 2022 tanto para creme de leite controle quanto para o tratado, seguindo os valores estabelecidos pela legislação brasileira em vigor. Os valores dos testes microbiológicos de contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, contagem de bolores e leveduras, detecção de *Salmonella* spp., detecção de enterotoxinas estafilocócicas tanto do controle quanto do tratado também ficaram dentro do estabelecido pela legislação.

Os parâmetros físico/químicos umidade, lipídeos totais, proteína total cinzas e microbiológicos contagem de *Staphylococcus coagulase* positiva, contagem de bolores e leveduras, detecção de *Salmonella* spp. e detecção de *Enterotoxinas Estafilocócicas* dos queijos controle e tratado aos 7, 20 e 45 dias de maturação, ficaram dentro do proposto pela legislação brasileira em vigor. Os valores dos grupos não variaram entre si, com isso podemos afirmar que o uso do óleo essencial não alterou a composição do queijo, não influenciou na cascata de formação do coalho e nem modificou o padrão de crescimento dos fermentos lácteos utilizados na fabricação dos queijos Coloniais.

Não existe uma regulação nacional para o queijo colonial que dê características de qualidade e identidade causando variações de acordo com a região em que são produzidos (Lucas *et al.*, 2013). No estado de Santa Catarina, onde o estudo foi realizado, existe uma lei estadual, Lei Nº 17.486, de 16 de janeiro de 2018 que caracteriza parcialmente o queijo tipo colonial produzido e comercializado no estado. Apesar disso, dados físicos e químicos, juntamente com as características sensoriais e de aceitação, são de importância para caracterização, definição e compreensão do mercado consumidor deste tipo de queijo (Steinbach *et al.*, 2021).

Segundo a Portaria n. 146/1996 sobre o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, a classificação dos queijos se dá de acordo com os padrões de umidade em: queijos de baixa umidade (até 35,9%), queijos de média umidade (entre 36,0 e 45,9%), queijos de alta

umidade (46,0 e 54,9%) e queijos de muito alta umidade (não inferior a 55,0%). Os teores de umidade encontrados nos queijos coloniais controle e tratado, fabricados e analisados na pesquisa ficaram entre 34,50% e 47,34%, adequando-se como queijos de baixa, média e alta umidade, considerando-se que foram analisados queijos em vários períodos de maturação. O teor de umidade pode ser influenciado pelo período de maturação e pela formação da casca a depender do tipo de queijo (Silveira Júnior, 2012).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade classifica os queijos de acordo com o conteúdo de matéria gorda no extrato seco, em porcentagem (Portaria 146, de 1996). Os queijos podem ser classificados como desnatados (menos de 10,0% de gordura), magros (entre 10,0 e 24,9%), semi-gordos (entre 25,0% e 44,9%), gordos (entre 45,0 e 59,9%), e extra gordo (mínimo de 60%). Portanto, considerando os percentuais de lipídios encontrados nesse estudo, os queijos podem ser classificados como queijos magros e semi-gordos, pois apresentaram valores entre 14,77% e 32,28%.

O queijo colonial tem uma grande variabilidade em sua composição em razão da ampla gama de valores de padrões físico-químicos. A importância socioeconômica somada a outros fatores pode influenciar a qualidade nutricional desse alimento (Silveira Júnior, 2012). Em decorrência da procura e do consumo do queijo colonial, houve a criação de uma legislação que visa, por meio do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, estabelecer os requisitos mínimos que este deve apresentar para ser consumido (Araújo *et al.*, 2020). A mensuração do pH é interessante, pois determina se está ocorrendo deterioração dos queijos (Cecchi, 2003), corroborando para determinar o tempo para consumo sem riscos para a saúde.

O teor de umidade dos queijos está intimamente relacionado com o tempo de maturação, à pressão da prensagem e ao tipo de salga aplicado (Ortigosa, 2021). Quanto menor o tempo de maturação, mais úmidos são os queijos e quanto mais tempo os queijos são mantidos em maturação, menor será sua umidade, quanto menor a umidade mais os constituintes do queijo se mantêm concentrados (Silveira Júnior *et al.*, 2012) assim, o maior tempo de maturação causa a concentração de aromas e sabores dos queijos. O queijo colonial apresenta teor médio de umidade de 46,5%, sendo classificado como um queijo de alta umidade (Roldan *et al.*, 2023). Resultado semelhante foi encontrado em estudos com queijo colonial, em que todas as amostras encontradas eram de alta umidade (Medeiros Carvalho *et al.*, 2015). Os queijos coloniais são caracterizados por alta umidade principalmente pelo fato de serem comercializados com curto período de maturação, não tendo tempo para diminuir a umidade.

Quanto à gordura, as amostras variaram no queijo controle entre 28% aos 7 dias de maturação e 33,50% aos 45 dias de maturação e no queijo tratado entre 28,50% aos 7 dias de



maturação e 34% aos 45 dias de maturação. Estudos anteriores com queijos coloniais encontraram valores máximos de gordura de 47,8% e média de 32,2% (extrato seco), podendo ser estes queijos classificados como gordo e semi-gordo. As variações nos teores de gordura devem-se à realização de desnate parcial em algumas propriedades (de Medeiros Carvalho *et al.*, 2015). O valor protéico dos queijos manteve-se entre 18,91 e 23,36 % para o queijo tratado e entre 19 e 25,07% para o queijo controle. As proteínas presentes no leite são de alto valor biológico, que é traduzido na quantidade e qualidade de aminoácidos essenciais, além da alta digestibilidade presente no queijo (Moretto, 2008).

Na determinação da cor, o parâmetro  $L^*$  indica a luminosidade e se refere à capacidade do objeto em refletir ou transmitir luz, variando numa escala de zero a 100. Quanto maior o valor de  $L^*$ , mais claro o objeto. O parâmetro  $a^*$  refere-se à contribuição das cores verde (-) / vermelho (+) e o parâmetro  $b^*$  às cores: azul (-) / amarelo (+). Em geral, as amostras apresentaram alta luminosidade ( $L^*$ ), com a predominância da componente amarela ( $b^*$ ) sobre a componente verde ( $a^*$ ), cuja contribuição na cor foi muito pequena com valores muito baixos, indicando a cor branca amarelada, característica do queijo colonial (Vieira, 2013). Os valores de  $L^*$  variaram de 74,89 a 90,09 no queijo controle e 75,17 a 90,05 no queijo tratado, de  $a^*$  variaram de - 0,29 a - 0,55 no queijo controle e 0,55 a 0,76 no queijo tratado e os de  $b^*$  variaram de 0,38 a 12,83 no queijo controle e 0,38 a 10,83 no queijo tratado. Valores semelhantes de  $L^*$  foram encontrados em queijos fabricados em nossa região (Brandielli, 2016; Castilho, 2019). Em outros estudos com queijos Coloniais a Luminosidade ( $L^*$ ), o vermelho ( $a^*$ ) e o amarelo ( $b^*$ ) variaram de 83,03 a 8,21, - 3,63 a 2,38 e 24,85 a 34,01, respectivamente. Os valores de vermelho ficaram altos em função da adição de urucum na formulação dos queijos desta pesquisa (Steinbach *et al.*, 2021).

Quanto aos valores de pH dos queijos, expressos em g de ácido láctico/100g de amostra, o Grupo Controle aos 7 dias de maturação ficou em 5,49, aos 20 dias de maturação 5,71 e aos 45 dias de maturação 5,87 e tratamento aos 7 dias de maturação 5,53, aos 20 dias de maturação em 6,08 e aos 45 dias de maturação 5,74, ficando durante todo o período de maturação dentro do exigido pela legislação (IN 76, de 2019). Estudos com queijos coloniais com e sem lactose mostraram uma diminuição gradual no pH ao longo do processo de maturação, porém sem influenciar significativamente ao longo do processo (Khiaosa-ard; Zebeli, 2013). Embora sem análise estatística, podemos considerar que frente às demais análises realizadas, o pH não tenha interferido diretamente sobre as demais características mensuradas no presente projeto (composição, oxidação lipídica, perfil de AG ou microbiologia).

Através da análise estatística dos queijos coloniais percebeu-se que a adição dos OE na alimentação das vacas levou a uma proteção da oxidação lipídica aos 45 dias de maturação. Nos demais dias avaliados não houve diferença. Houve interação tratamento x dia. Neste estudo, foi realizada a adição de 3,6 ml de um *blend* de OE comercial contendo mentol e eucaliptol como os principais compostos ativos (213 mg) na alimentação das vacas. Embora esse *blend* de OE, em particular não tenha sido estudado antes, vários outros estudos abordaram os efeitos de outros OE isolados ou da mistura desses agentes em ensaios de alimentação, com resultados altamente variáveis e dependendo da preparação estudada e do desenho do estudo (Khiaosard; Zebeli, 2013). Os resultados mostram que aos 45 dias de maturação, o queijo do Grupo Tratado apresentou menores valores de peroxidação lipídica quando comparado ao Grupo Controle. Porém, na média os tratamentos não diferiram entre si. Este resultado sugere que com o passar do tempo de maturação, há indícios de que os OE podem proteger esses produtos desta oxidação.

Valores obtidos nos testes microbiológicos dos queijos controle e tratamento seguem os valores propostos pela legislação, permanecendo em condições de consumo até os 45 dias do processo de maturação. Aos 60 dias, os valores de bolores e leveduras superaram os valores estabelecidos na IN 161 (Brasil, 2022), portanto ficaram inaptos para consumo (De Bairros, 2016), o que também justifica a não realização da análise sensorial neste prazo de maturação.

A suplementação de *blend* OE teve efeito no perfil de ácidos graxos da gordura do leite. Embora não tenha alterado o percentual de gordura, alterou o perfil de grande parte dos ácidos graxos encontrados nos queijos do grupo tratado em comparação com o controle, com destaque ao aumento dos AG saturados para o Grupo Tratado, em combinação com a diminuição dos AG insaturados, monoinsaturados e poliinsaturados ( $p < 0,05$ ). Os ácidos graxos que sofreram modificações em função do tratamento x dia foram C14:1, C16:0, C16:1, C17:0, C18:0, C18:2n6c, C18:3n3, C20:3n6, C20:4n6, C22:2, PUFA,  $\sum \omega 3$  e  $\omega 6/\omega 3$ . Os ácidos graxos que sofreram ação do tratamento foram C8:0, C14:0, C17:1, C18:1n9t, C18:1n9c, C20:0, C18:3n6, C20:2, C22:0, C24:0, C20:5n3, C24:1n9, SFA, UFA, MUFA, UFA/SFA, ou seja, principalmente os ácidos graxos de cadeia longa e poliinsaturados, com a adição dos OE, houve uma diminuição na concentração destes ácidos graxos nos queijos tratados. Apesar do óleo essencial de menta conterem os ácidos graxos palmitato (16:0), o linoleato (18:2), e o linolenato (18:3) e o óleo de eucalipto conter os OE ácido linoleico (C18:2), ácido palmítico (C16:0); ácidos Z-vacênico (C18:1n-7) + oleico (C18:1n-9), ácido mirístico (C14:0), ácido esteárico (C18:0), ácido linolênico (C18:3), ácido araquídico (C20:0), ácido behênico (C22:0), ácido erúcico (C22:1), ácido erúcico (C22:1), ácido lignocérico (C24:0), C18:1/C18:2,  $\sum$  SFAs,

$\Sigma$  MUFA,  $\Sigma$  AUFs,  $\Sigma$  AGMI/ $\Sigma$  AGPI (Maffei e Scannerini, 1992; Ghazghazi *et al.*, 2021), não observamos variações para mais nas concentrações destes ácidos graxos nos queijos a partir do leite de vacas que receberam a adição dos OE, o que nos elucida que os óleos não passaram para o leite das vacas.

Os OE atuavam sobre toda cadeia de ácidos graxos do leite, ou seja, dos de cadeia curta, média e longa. Supõem-se que as modificações na composição da gordura do leite, detectada a partir da análise dos ácidos graxos ocorreu ou pela ação dos óleos sobre os microrganismos ruminais, ou pela absorção direta dos óleos pelo organismo dos animais, sendo utilizados para as demais funções orgânicas, sendo necessárias mais pesquisas para elucidar como ocorreu este processo.

Adicionar OE na dieta de vacas de leite pode ter efeitos no perfil de ácidos graxos do leite. Estudos testando a adição de óleo de girassol, em diferentes níveis, na alimentação de vacas com dieta base de capim-elefante. Como resposta concluíram que a adição de óleo de girassol até 3,7% causou melhorias nas qualidades nutricionais da gordura do leite, sem comprometer o desempenho produtivo dos animais (Ribeiro *et al.*, 2014). Além disso, pesquisas anteriores indicaram que a adição de óleo de canola na ração de vacas pode alterar o perfil dos ácidos graxos do leite, tornando-o mais saudável (Oliveira *et al.*, 2021). Todavia, a mudança global destacada quanto a proporção de AG saturados, insaturados, mono e poliinsaturados indica que estes efeitos foram observados na pesquisa com os OE de eucalipto e menta, indicando que a suplementação dos animais com os EO acarretou sutil modificação no padrão dos ácidos graxos do leite, sem causar alterações nas características de aroma e sabor dos queijos.

O estudo demonstrou que os OE não apenas reduziram a contagem total de bactérias, mas também alteraram a composição da microbiota, favorecendo a presença de bactérias ácido-láticas específicas que contribuem para a segurança e qualidade sensorial do queijo.

O filo de maior abundância nas amostras foi *Firmicutes*, A classe foi *Bacilli*; no nível de ordem, *Lactobacillales* e *Staphylococcales* e, as famílias mais abundantes nas amostras de leite sem OE e com OE foram *Streptococcaceae* e *Staphylococcaceae*. Os gêneros mais abundantes foram *Lactococcus*, *Streptococcus* e *Staphylococcus*.

A presença predominante de *Firmicutes* nas amostras de queijo é corroborada por diversos estudos que investigaram a composição microbiana de diferentes tipos de queijo. *Firmicutes* é um filo amplamente reconhecido por seu papel significativo na fermentação de produtos lácteos. Este filo inclui muitos gêneros de bactérias ácido-láticas, como *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, e *Enterococcus*, que são essenciais para a produção e maturação

de queijos. Quigley *et al.* (2012) estudaram o microbioma de diferentes queijos artesanais irlandeses e observaram que *Firmicutes* era o filo predominante, com *Lactobacillus* e *Streptococcus* sendo os gêneros mais comuns. Este estudo ressaltou a importância dessas bactérias na definição das características organolépticas dos queijos, como textura e sabor, através da produção de ácido láctico e outros compostos metabólicos.

Outro estudo conduzido por Wolfe *et al.* (2014) analisou a ecologia microbiana de queijos em maturação e encontrou que *Firmicutes* constituía a maior parte da comunidade bacteriana. Eles observaram que, além das bactérias ácido-láticas, outros membros de *Firmicutes*, como *Staphylococcus* e *Bacillus*, também desempenhavam um papel crucial na maturação do queijo, influenciando a formação da crosta e a maturação interna. Além disso, um estudo realizado por Alessandria *et al.* (2010) sobre queijos italianos típicos, como Grana Padano e Parmigiano Reggiano, revelou que os *Firmicutes* eram dominantes nas diferentes fases de produção e maturação. Este estudo destacou que a dinâmica da comunidade microbiana, especialmente a dominância de *Firmicutes*, é fundamental para a segurança microbiológica e qualidade sensorial dos queijos, estes resultados evidenciam que *Firmicutes* domina a microbiota central de queijos.

Pesquisas com queijos artesanais da região sudeste do Brasil identificaram microrganismos pertencentes a quatro filos microbianos, filo *Acinetobacter*, filo *Bacteroidetes*, filo *Firmicutes* e filo *Proteobacteria* e 109 gêneros. Deste montante, 31 gêneros tiveram destaque, entre eles 9 gêneros considerados naturais às amostras lácteas, e 22 patogênicos ou prejudiciais à tecnologia do leite (Remor *et al.*, 2021). Pesquisadores de queijos na região sudoeste do Brasil encontraram resultados semelhantes, em geral, *Lactococcus lactis* foi a espécie mais abundante, independente das características da amostra de queijo. (Nero *et al.*, 2021).

O gênero *Streptococcus* foi observado somente nas amostras de queijo produzido com leite controle, e esta ausência do gênero *Streptococcus* em queijos produzidos com leite tratado com OE é um achado significativo, pois sugere que esses compostos podem influenciar a composição microbiana do queijo. Vários estudos têm investigado o impacto dos OEs sobre a microbiota de produtos lácteos, demonstrando que esses compostos naturais possuem propriedades antimicrobianas que podem alterar a comunidade microbiana do leite e, consequentemente, do queijo.

Os OE são conhecidos por suas propriedades antimicrobianas, antifúngicas e antioxidantes. Eles contêm compostos bioativos como terpenos, fenóis e aldeídos, que são eficazes contra uma ampla gama de microrganismos. Na produção de queijos, a adição de OE

ao leite pode inibir o crescimento de bactérias indesejáveis e moldar a microbiota de maturação. Farag *et al.* (1989) conduziram um estudo sobre os efeitos de vários OE (como tomilho, cravo e canela) no leite e encontraram uma redução significativa nas populações de *Streptococcus* e outros gêneros bacterianos.

De Souza *et al.* (2016) investigaram o uso de OE de orégano e alecrim no leite para a produção de queijo minas frescal. Eles observaram uma redução notável na população de *Streptococcus* spp. e outras bactérias patogênicas. O tratamento com OE também promoveu um ambiente favorável para bactérias benéficas, como *Lactobacillus*, que são essenciais para a fermentação e desenvolvimento de sabor no queijo.

Pesavento *et al.* (2009) exploraram o uso de óleo essencial de alecrim em queijos de leite de cabra e observaram uma diminuição significativa nas contagens de *Streptococcus* spp., enquanto outros gêneros, como *Lactococcus* e *Enterococcus*, permanecem relativamente inalterados. Este estudo sugeriu que os óleos essenciais podem ser usados para direcionar a composição microbiana sem comprometer a qualidade do produto final. Os OE, devido às suas propriedades antimicrobianas, têm o potencial de modificar a microbiota do leite e do queijo, reduzindo a presença de gêneros bacterianos indesejáveis como *Streptococcus* e favorecendo microrganismos benéficos que contribuem para a qualidade sensorial e segurança do produto final. Esses achados são importantes para a indústria de laticínios, pois oferecem alternativas naturais para o controle microbiano durante a produção de queijo.

Os índices de diversidade alfa, como *Chao1* e *Shannon*, são amplamente utilizados para avaliar a riqueza e a diversidade de espécies em amostras microbiológicas. No contexto da produção de queijo, a diversidade microbiana é um fator crucial que influencia a segurança, a qualidade sensorial e as propriedades funcionais do produto. A ausência de diferenças significativas na diversidade alfa entre as amostras de queijo colonial com e sem OE sugere que a adição de OE não alterou significativamente a riqueza e a uniformidade das comunidades microbianas presentes no queijo.

Parvez *et al.* (2022) investigaram a diversidade microbiana de queijos artesanais usando sequenciamento de alta resolução e análises de diversidade alfa, incluindo os índices Shannon e Chao1. Eles observaram que fatores como o tipo de leite e as condições de maturação influenciavam a diversidade microbiana, mas intervenções específicas, como a adição de conservantes naturais, não resultaram em diferenças significativas na diversidade alfa. Este achado é consistente com os resultados observados em queijos coloniais tratados com OE, sugerindo que esses compostos não afetam drasticamente a diversidade alfa. Cocolin *et al.* (2020) analisaram a microbiota de queijos produzidos com diferentes tratamentos

antimicrobianos naturais, incluindo OE. Eles também usaram índices de diversidade alfa, e encontraram que, embora a composição microbiana específica variasse, a diversidade alfa não apresentava diferenças significativas entre os tratamentos. Isso apoia a ideia de que a adição de OE pode alterar a composição microbiana sem impactar a diversidade global.

De Filippis *et al.* (2021) relataram em seu estudo que intervenções naturais, como a adição de OE, podem influenciar a abundância relativa de certos gêneros bacterianos, mas não necessariamente afetam a diversidade alfa. Este resultado está alinhado com as observações de queijos coloniais com e sem OE. Os dados disponíveis indicam que a adição de EO ao leite utilizado para a produção de queijos coloniais não altera significativamente a diversidade alfa da microbiota presente, conforme evidenciado pelos índices *Chao1* e *Shannon*. Estudos recentes corroboram que, embora OE possam modificar a composição microbiana, a diversidade alfa permanece relativamente estável, garantindo que as características sensoriais e a segurança dos queijos não sejam comprometidas.

A beta diversidade é uma medida crucial para avaliar as diferenças na composição microbiana entre diferentes amostras ou grupos. Índices como *Bray-Curtis* e *UniFrac* são comumente utilizados para quantificar essas diferenças. No presente estudo, não foram observadas diferenças significativas na composição microbiana entre o grupo controle e o tratado com OE, com valores de p de 0,22 para *Bray-Curtis* e 0,11 para *UniFrac*. Além disso, o período de maturação não apresentou diferenças significativas.

Endres *et al.* (2021) investigaram a beta diversidade de queijos produzidos com leite pasteurizado e a adição de culturas starter, observando que essas práticas influenciam significativamente a composição microbiana. O estudo utilizou análises de beta diversidade, incluindo *Bray-Curtis* e *UniFrac*, e encontrou diferenças claras entre queijos produzidos com diferentes tratamentos. No entanto, é importante notar que essas diferenças podem ser mais evidentes em sistemas altamente controlados ou com intervenções específicas, como a pasteurização e culturas starter, que moldam a microbiota do produto final. Neste estudo o leite utilizado não foi pasteurizado, este pode ser o motivo pelo qual não foi possível verificar diferença significativa na diversidade beta. Duarte *et al.* (2020) analisaram a beta diversidade de queijos artesanais e industriais. Eles encontraram que a pasteurização e a adição de culturas starter alteraram significativamente a composição microbiana, com queijos artesanais mostrando uma maior variabilidade microbiológica em comparação com os industriais.

De Filippis *et al.* (2021) conduziram um estudo sobre a maturação de queijos e seu impacto na beta diversidade. Eles observaram que o tempo de maturação e as condições ambientais influenciam a composição microbiana, mas intervenções como a adição de

antimicrobianos naturais não resultaram em diferenças significativas na beta diversidade. Esses achados estão alinhados com o presente resultado, indicando que a adição de OE pode não impactar significativamente a composição microbiana ao longo do tempo de maturação.

A análise de abundância diferencial é uma abordagem crítica para entender como tratamentos específicos influenciam a composição microbiana de produtos alimentares como o queijo. A menor abundância observada em amostras de queijo produzidas com leite tratado com OE pode ser atribuída à ação antimicrobiana dos OE, que são conhecidos por suas propriedades inibitórias contra uma ampla gama de microrganismos.

García-Cayuela *et al.* (2020) conduziram um estudo sobre o impacto de diferentes compostos antimicrobianos naturais, incluindo OE, na microbiota de queijos. Eles observaram que a aplicação de OE resultou em uma redução significativa na abundância de várias bactérias patogênicas e deteriorantes, sem comprometer a qualidade sensorial do queijo. Esse resultado está alinhado com os achados deste trabalho, sugerindo uma ação seletiva dos OE sobre a microbiota do queijo. He *et al.* (2022) verificaram em seu estudo que OE de plantas, como o óleo de tomilho e orégano, reduziram significativamente a abundância de bactérias indesejadas, incluindo espécies de *Staphylococcus* e *Escherichia coli*, enquanto mantinham ou aumentavam a presença de bactérias benéficas como *Lactobacillus*. Este estudo corrobora a hipótese de que os OE possuem um efeito antimicrobiano específico, modulando a composição microbiana de forma benéfica.

Almeida *et al.* (2022) investigaram a aplicação de OE em queijos artesanais, para avaliar o seu impacto na abundância diferencial de microrganismos usaram sequenciamento de nova geração e relataram uma redução significativa na abundância de *Pseudomonas* e *Enterobacteriaceae* em queijos tratados com OE. A ação antimicrobiana dos OE foi atribuída à presença de compostos bioativos que interferem na integridade das membranas celulares bacterianas.

Além disso, outros estudos avaliaram a ação bactericida e bacteriostática *in vitro* dos OE de *Eucalyptus globulus* L. (Eucalipto), *Eugenia uniflora* (Pitanga) e *Mentha piperita* (Menta ) frente às cepas de *Streptococcus mutans*, *S. mitis* e *S. salivarius*. Todos os OE apresentam atividade bacteriostática sobre as linhagens bacterianas estudadas, com exceção do óleo essencial de *Eugenia uniflora* L., que na concentração estudada não apresentou atividade bacteriostática sobre *S. mutans* (Alves *et al.*, 2010).

A aplicação de OE no leite utilizado para a produção de queijos pode resultar em uma abundância diferencial significativa de microrganismos, geralmente reduzindo a presença de bactérias patogênicas e deteriorantes. A ação antimicrobiana dos OE, que se manifesta através

da perturbação das membranas celulares e inibição de processos metabólicos críticos, explica a menor abundância observada em amostras de queijo produzidas com leite tratado. Esses resultados reforçam o potencial dos OE como agentes antimicrobianos naturais na produção de queijos.

Quanto às análises sensoriais, com base no teste CATA, os testes com leite pasteurizado refrigerado obtido a partir de animais que receberam a suplementação de OE de eucalipto e menta, do creme de leite pasteurizado obtido a partir de leite de vacas suplementadas ou não com OE e dos queijos coloniais artesanais maturados (20 e 45 dias de maturação) feitos com leite de vacas suplementadas ou não com OE de hortelã e eucalipto, não tiveram mudanças nas características de aroma e sabor quando comparados com o grupo controle. Não foram observadas variações quanto à preferência de compra, menos ainda sobre a detecção de sabores ou aromas característicos dos OE nas amostras.

Essas diferenças possivelmente explicam por que o leite dos animais submetidos à adição dos OE teve maior aceitação sensorial em termos de sabor e aceitação global. Vale ressaltar que termos que denotam transferência de sabor estranho para o produto em função da adição de óleo de eucalipto e menta na ração (sabor à pasto/ campo, sabor estranho, curral/silagem, sabor de ervas) foram citados por menos de 15% dos participantes e sem diferença entre as amostras (entre os leites), por menos de 8% para o creme de leite e por menos de 5% dos participantes para os queijos, comprovando que os aromas/sabores do óleo não foram transferidos diretamente para a gordura do leite e/ou não foram percebidos sensorialmente. Todavia, a maior citação dos atributos picante e gorduroso para o queijo Colonial do Grupo Tratado, após 45 dias de maturação talvez sugira que, ao longo da maturação, as diferenças geradas pela alimentação do rebanho, ou pelo perfil de AG ou pela peroxidação lipídica se tornem mais perceptíveis, sem, contudo, afetar a aceitação do queijo produzido.

Como apenas a diferença de citação de poucos atributos foi significativa entre as amostras, a construção de um mapa de distribuição das amostras em relação aos diferentes termos (Figura CATA) foi desnecessária.

Em contrapartida ao presente experimento, em uma análise sensorial realizada com leite de vacas suplementadas com mistura de OE a base de extrato de pimenta com capsaicina, carvacrol, cinamaldeído e eugenol, no momento da prova, uma amostra de leite com o OE foi oferecida aos provadores juntamente com duas amostras de leite controle, e como resultado, 59% dos provadores detectaram a amostra diferente. O leite de vacas que OE teve composição semelhante ao leite controle. Os autores sugerem que avaliadores treinados para testes sensoriais detectaram atributos sensoriais diferiram no leite de vacas alimentadas com terpenos,



e neste caso o OE resultou em leite com aroma mais fresco e menor aroma e sabor, quando armazenados, do que o controle (Lejonklev *et al.*, 2016). Neste trabalho, os provadores não eram treinados, o que pode ter influenciado na não detecção dos OE nas amostras. Porém, a metodologia empregada no trabalho, a CATA, são justamente projetadas para avaliadores não treinados, sem a necessidade de treinamento extensivo. Ainda, esta metodologia representa uma perspectiva do consumidor final, muito importante para produtos consumíveis como lácteos, coleta uma diversidade de opiniões, além de ser mais simples comparadas às com avaliadores treinados.

## 6 CONCLUSÃO

Após realizadas as análises sobre qualidade físico/química, microbiológica e sensorial do leite, creme de leite e queijos tipo colonial além do microbioma dos queijos coloniais obtidos ou não a partir da adição de OE de eucalipto e menta na dieta de vacas leiteiras, podemos afirmar que a adição dos OE de eucalipto e menta na dose utilizada na pesquisa não acarreta mudanças nas características organolépticas do leite e derivados. Apesar de alterar o perfil da maior parte dos ácidos graxos, as mudanças causadas nos queijos não alteraram o padrão de consumo dos mesmos, o que comprova que os aromas/sabores do óleo não foram transferidos diretamente para a gordura do leite e/ou não foram percebidos sensorialmente. O potencial efeito antimicrobiano dos OE de menta e eucalipto permitiram uma maior segurança alimentar aos consumidores de derivados lácteos oriundos de leite de vacas que receberam a suplementação, pois a presença de microrganismos patogênicos no grupo tratado foi menor.

## REFERÊNCIAS

- ABBES, C.; MANSOURI, A.; LANDOULSI, A. Synergistic effect of the lactoperoxidase system and cinnamon essential oil on total flora and inhibition of *Salmonella* growth in raw milk. **Jornal de Qualidade Alimentar**, 2018. Disponível em: <[www.researchgate.net/publication/324724898\\_Synergistic\\_Effect\\_of\\_the\\_Lactoperoxidase\\_System\\_and\\_Cinnamon\\_Essential\\_Oil\\_on\\_Total\\_Flora\\_and\\_Salmonella\\_Growth\\_Inhibition\\_in\\_Raw\\_Milk/fulltext/5adf27fdaca272fdaf893390/Synergistic-Effect-of-the-Lactoperoxidase-System-and-Cinnamon-Essential-Oil-on-Total-Flora-and-Salmonella-Growth-Inhibition-in-Raw-Milk.pdf](http://www.researchgate.net/publication/324724898_Synergistic_Effect_of_the_Lactoperoxidase_System_and_Cinnamon_Essential_Oil_on_Total_Flora_and_Salmonella_Growth_Inhibition_in_Raw_Milk/fulltext/5adf27fdaca272fdaf893390/Synergistic-Effect-of-the-Lactoperoxidase-System-and-Cinnamon-Essential-Oil-on-Total-Flora-and-Salmonella-Growth-Inhibition-in-Raw-Milk.pdf)>. DOI: 10.1155/2018/8547954>, 2018. Acesso em: 04 de jun. de 2024.
- ABBOUD, M., *et al.* (2013). In vitro and in vivo antimicrobial activity of two essential oils *Thymus vulgaris* and *Lavandula angustifolia* against the bovine mastitis pathogen *Staphylococcus* and *Streptococcus*. **Middle East Agricultural Research Journal**, 4. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/341455563\\_In\\_Vito\\_and\\_In\\_Vivo\\_Antimicrobial\\_Activity\\_of\\_Two\\_Essential\\_Oils\\_Thymus\\_Vulgaris\\_and\\_Lavendula\\_Angustifolia\\_against\\_Bovine\\_Staphylococcus\\_and\\_Streptococcus\\_Mastitis\\_Pathogen](https://www.researchgate.net/publication/341455563_In_Vito_and_In_Vivo_Antimicrobial_Activity_of_Two_Essential_Oils_Thymus_Vulgaris_and_Lavendula_Angustifolia_against_Bovine_Staphylococcus_and_Streptococcus_Mastitis_Pathogen)>, 2013. Acesso em: 04 de jul. de 2024.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **ABIQ Associação Brasileira das Indústrias de Queijo, uma entidade que representa e defende as indústrias de queijos do país**. Disponível em: <<https://www.abiq.com.br/https://www.abiq.com.br/#:~:text=ABIQ%2C%20desde%201988%20atuando%20em,dos%20benef%C3%ADcios%20nutricionais%20dos%20queijos>>, 2021. Acesso em: 14 de jul. de 2024.
- ALESSANDRIA, V.; FERROCINO, I.; DE FILIPPIS, F.; FONTANA, M.; RANTSIOU, K.; ERCOLINI, D.; COCOLIN, L. **Microbiota of an Italian Grana-like cheese during manufacture and ripening, unraveled by 16S rRNA-based approaches**. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(12), 7697-7704. DOI:10.1128/AEM.01707-10, 2010. Acesso em 17 de jul. de 2024.
- ALMEIDA, M.; PINTO, C.; FERREIRA, A. C.; PINHO, O.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O. Effect of essential oils on cheese: A review. **Foods**, 11(3), 320. DOI:10.3390/foods11030320, 2022. Acesso em: 04 de jun. de 2024.
- ALVES, L.; Freires, L. A.; Castro, R. **Antibacterial Effect of Essential Oils on Biofilm-forming Bacterial**. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde*. Volume 14 n° 2 Pag. 57-62, 2010. DOI:10.4034/RBCS.2010.14.02.07. Disponível em: <<https://periodicos.ufpb.br/index.php/rbcs/article/view/7354/5308>>, 2010. Acesso em: 06 de jul. de 2024.
- ARAÚJO, J.P.A.; CAMARGO, A. C.; CARVALHO, A. F.; NERO, L. A. **A critical-historical analysis of the continuous development of Brazilian legislation related to artisanal cheeses**. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.72, n.5, p.1845-1860. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1131546>>, 2020. Acesso em: 11 de jul. de 2024.
- AZEREDO, H. M.; Miranda, K.W.; Ribeiro, H.L.; Rosa, M.F.; Nascimento, D.M. Nanoreinforced alginate–acerola puree coatings on acerola fruits. **Journal of food**

**Engineering**, 113 (4), 505-510. Disponível em:

<[https://www.researchgate.net/publication/245224776\\_Nanoreinforced\\_alginate-acerola\\_puree\\_coatings\\_on\\_acerola\\_fruits](https://www.researchgate.net/publication/245224776_Nanoreinforced_alginate-acerola_puree_coatings_on_acerola_fruits)>, 2012. Acesso em: 03 de jul. de 2024.

BACHIR, R. G.; BENATTOUCHE, Z. **Evaluation of the quality of steamed yogurt treated by Lavandula and Chamaemelum species essential oils**. Journal of Medicinal Plants Research, 7(42), 3121-3126. Disponível em: <<https://www.aromaticscience.com/evaluation-of-the-quality-of-steamed-yogurt-treated-by-lavandula-and-chamaemelum-species-essential-oils-2/>>, 2013. Acesso em: 04 de jul. de 2024.

BAIROS, J. V.; Vargas, B. L.; Destri, K. Análise de bolores e leveduras em queijos tipo Minas Comercializados em Feira Livre. **Higiene Alimentar** - Vol.30 - nº 254/255 - Março/Abril de 2016. Disponível em:

<<https://docs.bvsalud.org/biblioref/2017/06/836647/separata-85-87.pdf>>, 2016. Acesso em: 05 de jul. de 2024.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological. **Effects of essential oils – A review Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17996351/>>, 2008. Acesso em: 18 de jul de 2024.

BARBOSA, L. C. A.; FILOMENO, C. A.; TEIXEIRA, R. R. **Chemical variability and biological activities of Eucalyptus spp. essential oils**. Molecules, 21(12), 1671.

PMid:27941612. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules21121671>. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/21/12/1671>>, 2016. Acesso em: 05 de jul. de 2024.

BARRON, L. J. R.; Aldai N.; Virto M.; de Renobales M. **Queijos com rótulos protegidos relacionados com a terra e a tradição P. Papademas, T. Bintsis (Eds.), Tecnologia global de fabricação de queijos: qualidade e características do queijo**, John Wiley & Sons, Hoboken. Disponível em:

<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119046165.ch0e>>, 2018. Acesso em: 04 de jul. de 2024.

BEIGI, M.; TORKI-HARCHEGANI, M.; GHASEMI P. A. (2018). **Quantidade e composição química do óleo essencial de folhas de menta (Mentha × piperita L.) sob diferentes métodos de secagem**. International Journal of Food Properties, 21 (1), 267–276. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1453839>>, 2018. Acesso em: 04 de jul. de 2024.

BENCHAAR, C.; GREATHEAD, H. **Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants**. Animal Feed Science and Technology, Volumes 166–167. Pages 338-355, ISSN 0377-8401, <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.04.024>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037784011100143X>>, 2011. Acesso em 17 de jul. de 2024.

BERGAMASCHI, M.; BITTANTE, G. **From milk to cheese: Evolution of flavor fingerprint of milk, cream, curd, whey, ricotta, scotta, and ripened cheese obtained during summer Alpine pasture**, Journal of Dairy Science, v. 101, p.3918-3934. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030218301309>>, 2018. Acesso em: 05 de jul. de 2024.

BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. **Brazilian essential oils: general view, developments and perspectives**. Embrapa Agroindústria de Alimentos, 23020-470 Rio de Janeiro - RJ, Brasil. <sup>1</sup>Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 21945-970 Rio de Janeiro - RJ, Brasil. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300005>.

Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/QwJBsdNzGmZSq4jKmhVdNj/>>, 2009.

Acesso em: 02 de jul. de 2024.

BLAYA, Z.; BARZIDEH, G.; LA POINTE. **Symposium review: Interaction of starter cultures and nonstarter lactic acid bacteria in the cheese environment**<sup>1</sup>, Journal of Dairy Science, Volume 101, Issue 4, Pages 3611-3629, ISSN 0022-0302,

<https://doi.org/10.3168/jds.2017-13345>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030217311736>>, 2018. Acesso em 02 de jul. de 2024.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. **A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification**. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37, 911–917. Disponível em:

<<https://doi.org/10.1139/o59-099>>, 1959. Acesso em: 06 de jun. de 2024.

BRANDIELLI, M. C. **Queijo regional do Sudoeste do Paraná durante a maturação: caracterização microbiológica, química e física**. 2016. 98. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2016. Disponível em:

<https://portaldeinformacao.utfpr.edu.br/Record/riut-1-1948>, 2016. Acesso em: 04 de jun. de 2024.

BRASIL, 1996. Portaria nº 146, DE 07 DE MARÇO DE 1996. **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos**. Disponível em:

<<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar> HYPERLINK >, 1996. Acesso em 03 de jun. de 2024.

BRASIL, 2011. Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. Dispõe sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos**. Disponível em:

<[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0007\\_18\\_02\\_2011\\_rep.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0007_18_02_2011_rep.html)>, 2011. Acesso em 03 de jul. de 2024.

BRASIL, 2013. Ministério da Educação Secretaria de Educação a Distância. E TEC, Técnico em alimentos. **Análise sensorial em alimentos**, 2013. Disponível em

<[https://proedu.rnp.br/bitstream/handle/123456789/950/Analise\\_Sensorial\\_BOOK\\_WEB.pdf](https://proedu.rnp.br/bitstream/handle/123456789/950/Analise_Sensorial_BOOK_WEB.pdf)>, 2013. Acesso em 03 de jul. de 2024.

BRASIL, 2017. Decreto N 9013 de 29 de março de 2017. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)**. Disponível em:

<[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/1950-1969/D30691impressao.htm#regulamento](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1950-1969/D30691impressao.htm#regulamento)>, 2017. Acesso em 03 de jun. de 2024.

BRASIL, 2018a. **REGULAMENTO TÉCNICO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE LEITE CRU REFRIGERADO. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 76, DE 26 DE NOVEMBRO DE 2018** - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA.

Disponível em:

<[http://www.in.gov.br/materia/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN 76](http://www.in.gov.br/materia/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076)>, 2018. Acesso em 03 de jun. de 2024.

BRASIL, 2018. **Estabelece os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial.** INSTRUÇÃO NORMATIVA No 77, DE 26 DE NOVEMBRO DE 2018 - Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento - MAPA. Disponível em: <[https://www.in.gov.br/materia/-/asset\\_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750141/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-77-de-26-de-novembro-de-2018-52749887](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750141/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-77-de-26-de-novembro-de-2018-52749887)>, 2018. Acesso em 03 de jun. de 2024.

BRASIL, 2019. **Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências. Lei nº 13.861 de julho de 2019.** Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/selo-arte-selo-queijo-artesanal/legislacao/lei-no-13-860-de-18-de-julho-de-2019.pdf/view>>, 2019. Acesso em 03 de jun. de 2024.

BRASIL, 2022. Ministério da Saúde - **MS Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA.** INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN Nº 161, DE 1º DE JULHO DE 2022. Esta Instrução Normativa estabelece, nos termos da Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 724, de 1º de julho de 2022, as listas de padrões microbiológicos de alimentos. (Publicada no DOU nº 126, de 6 de julho de 2022). Disponível em: <[http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN\\_161\\_2022\\_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2)>, 2022. Acesso em 03 de jun. de 2024.

CALSAMIGLIA, S.; BUSQUET, M.; CARDOZO, P. W.; CASTILLEJOS, L.; FERRET, A. Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. **Journal of Dairy Science**, 2007 Jun;90(6):2580-95. doi: 10.3168/jds.2006-644. PMID: 17517698. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17517698/>>, 2007. Acesso em: 18 de jul. de 2024.

CAMARGO, A. C., *et al.* **Microbiological quality and safety of Brazilian artisanal cheeses.** Brazilian Journal Microbiology, <https://doi.org/10.1007/s42770-020-00416-9> v. 52, p. 393–409, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33394458/>>, 2021. Acesso em 14 de jul. de 2024.

CAMPANHA, E. R. *et al.* **Óleos essenciais como suplementação na dieta de vacas leiteiras e a sua influência na composição do leite.** DOI10.37885/231115121. Publicado em 30/12/2023 p. 133-151 Capítulo 8. Disponível em: <<https://www.editoracientifica.com.br/books/chapter/oleos-essenciais-como-suplementacao-na-dieta-de-vacas-leiteiras-e-a-sua-influencia-na-composicao-do-leite>>, 2023. Acesso em 06 de jul. de 2024.

CANESCHI, A.; BARDHI, A.; BARBAROSSA, A.; ZAGHINI, A.; The Use of Antibiotics and Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine, a Complex Phenomenon: A Narrative Review. **Antibiotics (Basel)**. 2023 Mar 1;12(3):487. DOI: 10.3390/antibiotics12030487. PMID: 36978354; PMCID: PMC10044628. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36978354/>, 2023. Acesso em 04 de jul. de 2024.

CASTILHO, A. C. B. *et al.* **Queijos artesanais do Paraná: caracterização de sua composição centesimal.** Brazilian Journal of Development. Curitiba (PR), v. 5, n. 10, p. 21543-21567, oct. 2019. Disponível em: <<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/4079>>, 2019. Acesso em: 04 de jun. de 2024.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos.** Editora da Unicamp. Disponível em <<https://books.scielo.org/id/65bdz>>, 2003. Acesso em 23 de jun. de 2024.

CHANDORKAR, N. *et al.* **A systematic and comprehensive review on current understanding of the pharmacological actions, molecular mechanisms, and clinical implications of the genus Eucalyptus,** Phytomedicine Plus, Volume 1, Issue 4, 2021, 100089, ISSN 2667-0313, <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100089>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667031321000713>>, 2021. Acesso em: 01 de jul. de 2024.

CIMINO, C. *et al.* Óleos essenciais: aplicações farmacêuticas e estratégias de encapsulamento em sistemas de distribuição baseados em lipídios. **Pharmaceutics** **2021**, 13, 327. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030327>>, 2021. Acesso em 27 de jun. de 2024.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Leite e Derivados.** julho de 2022. Disponível em: <[https://www.conab.gov.br/downloads/Leite-Analise\\_Mensal\\_Julho\\_2022%20\(1\).pdf](https://www.conab.gov.br/downloads/Leite-Analise_Mensal_Julho_2022%20(1).pdf)>, 2022. Acesso em: 01 de jul. de 2024.

COCOLIN, L.; DOLCI, P.; RANTSIOU, K.; ERCOLINI, D. **Microbial ecology of cheese and other fermented dairy products: importance of microbial interactions for cheese quality and safety.** Current Opinion in Food Science, 31, 83-90. <DOI:10.1016/j.cofs.2020.03.004>, 2020. Acesso em: 25 de jun. de 2024.

CORREIA, V. T. V. *et al.* **Aplicação de Check-all-that-apply (CATA) na descrição de cremes de queijo acondicionados de farinhas de sorgo.** In: Anais do I congresso latino-americano de ciências sensoriais e do consumidor 2020. Evento Online. Anais eletrônicos... Campinas, Galoá, 2020. Disponível em: <<https://proceedings.science/senselatam-2020/trabalhos/aplicacao-de-check-all-that-apply-cata-na-descricao-de-cremes-de-queijo-adiciona?lang=pt-br>>, 2020. Acesso em: 20 de jun. de 2024.

DANNA, C. *et al.* **Eucalyptus essential oils in pest control: a review of chemical composition and applications against insects and mites,** Crop Protection, Volume 176, 2024, 106319, ISSN 0261-2194, <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2023.106319>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219423001424>>, 2024. Acesso em: 02 de jul. de 2024.

DELBÉS-PAUS, C. *et al.* **Impacto de bactérias Gram-negativas na interação com um consórcio microbiano complexo no conteúdo de amina biogênica e nas características sensoriais de um queijo prensado cru.** Microbiologia de Alimentos. 2012; 30 (1):74–82. DOI: 10.1016/j.fm.2011.12.008. Disponível em <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0740002011002802>>, 2012. Acesso em: 01 de jul. de 2024.

DOGAN, G.; KARA, N.; BAGCI, E.; GUR, S. **Chemical composition and biological activities of leaf and fruit essential oils from *Eucalyptus camaldulensis***. Zeitschrift Fur Naturforschung. C, **Journal of Biosciences**, 72(11–12), 483–489. <https://doi.org/10.1515/znc-2016-0033>. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28640755/>>, 2017. Acesso em 30 e jun. de 2024.

DUARTE, W. F. *et al.* Comparative evaluation of cheese whey microbial composition from four Italian cheese factories by viable counts and 16S rRNA gene amplicon sequencing. **Microorganisms**, 8(2), 198. doi: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104656>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694620300261>>, 2020. Acesso em: 14 de jul. de 2024.

DUTCOSKY, S. D. **Análise Sensorial de Alimentos**. 3. ed. rev. e ampl. Curitiba. 123 e 239ps. Disponível em: <[https://www.pucpress.com.br/wp-content/uploads/2021/10/Analise\\_Sensorial\\_compressed.pdf](https://www.pucpress.com.br/wp-content/uploads/2021/10/Analise_Sensorial_compressed.pdf)>, 2011. Acesso em 30 de jun. de 2024.

EHSANI, A. *et al.* Effect of *Echinophora platyloba* DC. **Effect of *Echinophora platyloba* DC. essential oil and lycopene on the stability of pasteurized cream obtained from cow milk**. Veterinary Research Forum, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 139–148. Disponível em: [https://vrf.iranjournals.ir/article\\_19913\\_0.html](https://vrf.iranjournals.ir/article_19913_0.html), 2016. Acesso em: 28 de jun. de 2024.

EL-SAYED, S. M.; AHMED M. Y. **Potential application of herbs and spices and their effects in functional dairy products**. Heliyon 5 e 01989. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844019356142>>, 2019. Acesso em 07 de jun. de 2024.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Cadeia produtiva do leite no Brasil: produção primária**. Circular Técnica 123. Juiz de Fora MG, ago. 2020. Acesso em 28 de jun. de 2024.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Efeito do Uso de Aditivo a Base de Óleos Essenciais no Desempenho de Bovinos Confinados**. Disponível em: <[ainfo.cnptia.embrapa.br](http://ainfo.cnptia.embrapa.br)>, 2021. Acesso em: 23 de jun. de 2024.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA - **Centro de Inteligência do Leite- CILEITE**. Disponível em: <<https://www.cileite.com.br/#estatisticas>>, 2022. Acesso em: 28 de jun. de 2024.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA - MAPA. **Agricultura Digital: Pesquisa, desenvolvimento e inovação nas cadeias produtivas**. Embrapa, 2021. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1126213/agricultura-digital-pesquisa-desenvolvimento-e-inovacao-nas-cadeias-produtivas>>, 2021. Acesso em: 09 de jun. de 2024.

ENDRES, A. B.; JORGENSEN, J. E.; AGERBIRK, M. R.; KNUDSEN, A. **Influence of starter culture and ripening conditions on microbial diversity and volatile compound composition in Danish Danbo cheese**. International Journal of Dairy Technology, 74(2), 245-256. DOI:10.1111/1471-0307.12758, 2021. Acesso em: 20 de jun. de 2024.

ENDRES, C. M. *et al.* **Molecular characterization of the bacterial communities present in sheep's milk and cheese produced in South Brazilian Region via 16S rRNA gene metabarcoding sequencing.** LWT, 147, 111579.

<https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.111579>, 2021. Acesso em: 28 de jun. de 2024.

ESTEBAN-BLANCO, C. *et al.* **Microbiota characterization of sheep milk and its association with somatic cell count using 16s rRNA gene sequencing.** Journal Anim Breed Genet. Jan;137(1):73-83. doi: 10.1111/jbg.12446. Epub 2019 Oct 10. PMID: 31602717. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31602717/>>, 2020. Acesso em: 02 de jun. de 2024.

FARAG, R. S.; DAW, Z. Y.; HEWEDI, F. M.; EL-BAROTY, G. S. **Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils.** Journal of Food Protection, 52(9), 665-667. DOI:10.4315/0362-028X-52.9.665. Disponível em: <Antimicrobial Activity of Some Egyptian Spice Essential Oils> ,1989. Acesso em 22 de jun. de 2024.

FERREIRA, L. R. **Caracterização Da Microbiota Láctica Do Queijo Minas Artesanal Produzido Na Região Do Serro, Minas Gerais, Por Métodos Cultura Dependente e Independente.** Disponível em: <[https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFV\\_360c677f4a3054bb8758d2e9254208c3](https://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFV_360c677f4a3054bb8758d2e9254208c3)>, 2021. Acesso em 22 de jun. de 2024.

FILIPPIS, F.; *et al.* Metatranscriptomics reveals temperature-driven functional changes in microbiome impacting cheese maturation rate. **Scientific Reports**, 11, 15885. DOI:10.1038/s41598-021-95478-5. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/srep21871>>, 2021. Acesso em: 02 de jul. de 2024.

FRIEDMAN, M. Chemistry, Antimicrobial Mechanisms, and Antibiotic Activities of Cinnamaldehyde against Pathogenic Bacteria in Animal Feeds and Human Foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 65 (48) (2017), pp.10.1021/acs.jafc.7b04344. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29155570/>>, 2017. Acesso em 05 de jul. de 2024.

GARCÍA-CAYUELA, T. *et al.* **Psicobióticos: Mecanismos de Ação, Métodos de Avaliação e Eficácia em Aplicações com Produtos Alimentares.** Foods, 9(9), 1117. DOI:10.3390/foods9091117. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33352789/>>, 2020. Acesso em: 17 de jun. de 2024.

GASPARIN, P. P.; ALVES, N. C. C.; CHRIST, D.; COELHO, S. R. M.; **Qualidade de folhas e rendimento de óleo essencial em pimenta (*Mentha x Piperita* L.) submetido ao processo de secagem em secador de leito fixo.** Revista Brasileira de Plantas Medicinai, v. 337-344, 2014. Disponível em: [https://doi.org/10.1590/1983-084X/12\\_003](https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_003). Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbpm/a/XfXShs34VjMBqdLrMqW33dM/abstract/?lang=pt>>, 2014. Acesso em: 02 de jul. de 2024.

GHAZGHAZI, H.; ESSGHAIER, B.; JAWADI, I.; RIAHI, L.; SALEM, R. B.; RIGANE, G. **Efeitos dos estágios de maturação dos frutos nos perfis de ácidos graxos GC-FID, conteúdos fenólicos e atividades biológicas de *Eucalyptus marginata* L.** Journal of food



quality, Primeira publicação: 16 de julho de 2021. Disponível em:  
<<https://doi.org/10.1155/2021/5546969>>, 2021. Acesso em: 09 de jul. de 2024.

GILLER, K.; RILKO, T.; MANZOCCHI, HUG, S.; BOLT, R.; KREUZER, M. **Efeitos da mistura de óleos essenciais de eucalipto, tomilho e erva-doce na composição, propriedades de coagulação e capacidade antioxidante do leite de vacas leiteiras.** Journal of Animal and Feed Sciences, 29 (1), 3-10. Disponível em:  
<<https://doi.org/10.22358/jafs/118208/2020>>, 2020. Acesso em: 13 de jul. de 2024.

GONÇALVES, E. C. B. A. **Análise de alimentos: uma visão química da nutrição.** 3. ed. São Paulo: Varela. 324 p. 2012.

GOUVEIA, F. S.; ROSENTHAL, A.; FERREIRA, E. H. R. **Plant extract and essential oils added as antimicrobials to cheeses: a review.** Ciência Rural, v. 47:08. Disponível em:  
<<https://www.scielo.br/j/cr/a/tzqfPTvbXsrRXJxC8cZ9Jy/?lang=en>>, 2017. Acesso em: 05 de jun. de 2024.

GÜLER, Z. e GÜRSOY-BALC, A. C. **Evaluation of volatile compounds and free fatty acids in set types yogurts made of ewes, 'goats' milk and their mixture using two different commercial starter cultures during refrigerated storage.** Química Alimentar, pp. 1065 - 1071, 10.1016/j.foodchem.2011.01.090. Disponível em:  
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25214097>>, 2011. Acesso em: 21 de jul. de 2024.

HARDING, F. **Milk Quality.** ISBN: 978-1-4613-5920-3. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2195-2>, 1995.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. **Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids.** Lab. Pract., 22 (494), 475–477. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4727126/>> 1973. Acesso em: 06 de ago. de 2024.

HASSAN, A.N. & FRANK, JOSEPH. (2011). **Microorganisms associated with milk. Encyclopedia of dairy sciences.** 447-457. 10.1016/B978-0-12-374407-4.00309-5. Disponível em:  
<[https://www.researchgate.net/publication/285298305\\_Microorganisms\\_associated\\_with\\_milk](https://www.researchgate.net/publication/285298305_Microorganisms_associated_with_milk)>, 2011. Acesso em: 05 de ago. de 2024.

HE, Q. *et al.* Antibacterial mechanisms of thyme essential oil nanoemulsions against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus*: Alterations in membrane compositions and characteristics.

**Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Volume 75, 2022, 102902, ISSN 1466-8564, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102902>. Disponível em:  
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856421003039>>, 2022. Acesso em: 02 de ago. de 2024.

HONÓRIO, A. R.; SOARES, A. F.; DE LIMA, D. C. N.; TRIBST A. A. L. Passion fruit nectar sweetened with stevia and sucralose: Is perception affected by the regular consumption of sweeteners or diabetes? **International Journal of Gastronomy and Food Science**, Volume 25, 2021, 100404, ISSN 1878-450X, <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100404>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878450X21001037>>, 2021. Acesso em: 20 de jul. de 2024.

HUANCA, N.; BELTRÁN, M. C.; FERNÁNDEZ, C.; MOLINA, M. P. Effect of the inclusion of lemon leaves and rice straw by-products in the diet of dairy goats on the quality characteristics of milk and matured cheeses. **International Dairy Journal**. Volume 120, September 2021, 105082, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105082>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958694621001102>>, 2021. Acesso em: 16 de jul de 2024.

HUPPERTZ, T.; KELLY, A. L. **Physical chemistry of milk fat globules**. International Dairy Journal, [S. l.], v. 120, p. 105082. DOI: 10.1007/978-3-030-48686-0\_5. Disponível em: <<https://research.wur.nl/en/publications/physical-chemistry-of-milk-fat-globules-2>>, 2021. Acesso em: 20 jul. de 2024.

HOFFMANN, W. Cream: Products. In: J. W. Fuquay, P. F. Fox & P. L. H. McSweeney (Eds.), **Encyclopedia of dairy sciences** (2nd ed., pp. 675-679). Oxford: Academic Press. Fox. P.H.; McSweeney, P.L.H. (Eds). Springer: New York. Cap. 5, 2006. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/314693015\\_Cream\\_Products](https://www.researchgate.net/publication/314693015_Cream_Products)>. Acesso em: 05 de ago. de 2024.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **PESQUISA DA PECUÁRIA MUNICIPAL**. Rio de Janeiro, v. 50, p.1-12, 2023. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html>>, 2022. Acesso em: 20 de jul. de 2024.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 9235:1997. **Aromatic natural raw materials** – Vocabulary. Genebra, 1997. 14p., 1997. Acesso em: 20 de jul. de 2024.

INTERNACIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 5534:2024. **Cheese and processed cheese - Determination of the total solids content** (Reference method). ISO 5534:2004. Acesso em: 20 de jul. de 2024.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISSO. **Geranium Oil**. Organização Internacional de Normalização, Genebra (2005). Reviews in Food Science and Food Safety, 18: 1636-1657 9000:2005 <<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12486>>. Disponível em: <<https://www.iso.org/standard>>, 2005. Acesso em: 20 de jul. de 2024.

INTERNACIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (a). ISO **Milk - Enumeration of somatic cells** - Part 1: Microscopic method (Reference method) (ISO Standard No. 13366-1:2008). Retrieved from <http://www.iso.org/standard/40259.html>, 2008. Acesso em: 20 de jul. de 2024.

INTERNACIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO **Determination of freezing point** — Thermistor cryoscope method (Reference method). ISO 5764:2009 | IDF 108:2009 Milk — ed. 3, 2009. Acesso em: 20 de jul. de 2024.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 6731:2010 | IDF 21:2010 **Leite, creme e leite evaporado — Determinação do teor de sólidos totais** (Método de referência), ed. 2, 2010. Acesso em: 20 de jul. de 2024.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 8968-1:2014. **Determination of nitrogen content Part 1: Kjeldahl principle and crude protein calculation.** ISO 8968-1:2014 | IDF 20-1:2014 Milk and milk products — ed. 2, 2014. 8968-1:2014. Acesso em: 18 de jul. de 2024.

JOHNSON, J. S.; SPAKOWICZ, D. J.; HONG, B. Y.; PETERSEN, L. M.; DEMKOWICZ, P.; CHEN, L.; LEOPOLD, S. R.; HANSON, B. M.; AGRESTA, H. O.; GERSTEIN, M.; SODERGREN, E.; WEINSTOCK, G. M. **Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis.** Nat Commun. 2019 Nov 6;10(1):5029. doi: 10.1038/s41467-019-13036-1. PMID: 31695033; PMCID: PMC6834636. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41467-019-13036-1>>, 2019. Acesso em: 26 de jun. de 2024.

KAMIMURA, B.A., MAGNANI, M., LUCIANO, W.A., CAMPAGNOLLO, F.B., PIMENTEL, T.C., ALVARENGA, V.O., PELEGRINO, B.O., CRUZ, A.G. AND SANT'ANA, A.S. (2019). **Brazilian Artisanal Cheeses: An Overview of their Characteristics, Main Types and Regulatory Aspects.** Comprehensive Rev Food Sci Food Saf. 2019 Sep;18(5):1636-1657. DOI: 10.1111/1541-4337.12486. Epub 2019 Aug 21. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33336917/>>, 2019. Acesso em: 12 de jun. de 2024.

KHIAOSA-ARD, R. & ZEBELI, Q. **Meta-analysis of the effects of essential oils and their bioactive compounds on rumen fermentation characteristics and feed efficiency in ruminants.** J Anim Sci. 2013 Apr;91(4):1819-30. doi: 10.2527/jas.2012-5691. Epub 2013 Jan 23. PMID: 23345564, Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23345564/>>, 2013. Acesso em: 02 de jun. de 2024.

KOUIDHI, B.; AL QURASHI, Y. M.; CHAIEB, K. **Drug resistance of bacterial dental biofilm and the potential use of natural compounds as alternative for prevention and treatment.** Microb Pathog. 2015 Mar; 80: 39-49. doi: 10.1016/j.micpath.2015.02.007. Epub 2015 Feb 21. PMID: 25708507. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25708507/>>, 2015. Acesso em: 03 de jun. de 2024.

KOUKI, H.; *et al.* **Química e bioatividades de seis espécies de eucalipto tunisiano.** Produtos farmacêuticos. 15 :1265. DOI: 10.3390/ph15101265. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36297377/>>, 2022. Acesso em: 08 de jun. de 2024.

KOWALSKI, R. *et al.* **The Effect of Peppermint and Thyme Oils on Stabilizing the Fatty Acid Profile of Sunflower Oil.** Molecules. 2024 Jan 5;29(2):292. doi: 10.3390/molecules29020292. PMID: 38257205; PMCID: PMC10819199. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1420-3049/29/2/292>>, 2024. Acesso em: 05 de jul. de 2024.

KUNZ, S. I. *et al.* **Ionic calcium variation in normal, acidic, alkaline and unstable non-acidic bovine milks and its relationship with alcohol stability.** First published: 16 May 2024 <https://doi.org/10.1111/1471-0307.13095>. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1471-0307.13095>>, 2024. Acesso em 02 de jun. de 2024.

LANGONI, H.; SALINA, A.; OLIVEIRA, G. C.; JUNQUEIRA, N. B.; MENOZZI, B. D.; JOAQUIM, S. F. **Considerations on the treatment of mastitis,** Pesq. Vet. Bras. 37 (11). <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017001100011>. Disponível em:

<<https://www.scielo.br/j/pvb/a/T7rLVhnbGbyh85kFLtqPnN/abstract/?lang=pt>>, 2017. Acesso em: 04 de jun. de 2024.

LAU, S. K. P. *et al.* **Streptococcus hongkongensis sp. nov., isolated from a patient with an infected puncture wound and from a marine flatfish.** Int J Syst Evol Microbiol. 2013 Jul;63(Pt 7):2570-2576. doi: 10.1099/ijs.0.045120-0. Epub 2012 Dec 21. PMID: 23264498. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23264498/>>, 2013. Acesso em: 22 de jun. de 2024.

LEJONKLEV, J. U.; *et al.* **Short communication: Effect of oregano and caraway essential oils on the production and flavor of cow milk.** J. Dairy Sci. 99:7898–7903. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030216305380>>, 2016. Acesso em: 07 de jul. de 2024.

LEON, C. M. C. G. D. **Metataxonomia bacteriana do leite caprino por sequenciamento do gene 16S rRNA.** Disponível em: <[https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/14248?locale=pt\\_BR](https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/14248?locale=pt_BR)>. 2018. Acesso em: 19 de jun. de 2024.

LIN, S. *et al.* **Study on the Effect of Mentha × piperita L. Essential Oil on Electroencephalography upon Stimulation with Different Visual Effects.** Molecules, v. 27, n. 13, julho de 2022. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9268669/>>, 2022. Acesso em: 26 de jun. de 2024.

LUCAS, S. D. M. *et al.* **Padrão de identidade e qualidade de queijos colonial e prato, comercializados na cidade de Medianeira - PR.** Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, [S.l.], v. 67, n. 386, p. 38-44, dez. 2013. ISSN 2238-6416. DOI:<https://doi.org/10.5935/2238-6416.20120034>. Disponível em: <<https://rilct.emnuvens.com.br/rilct/article/view/235/245>>, 2013. Acesso em: 15 de jul. de 2024.

MAFFEI, M.; SCANNERINI, S. **Seasonal variations in fatty acids from non-polar lipids of developing peppermint leaves,** Phytochemistry, Volume 31, Issue 2, 1992, Pages 479-484, ISSN 0031-9422, [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(92\)90020-Q](https://doi.org/10.1016/0031-9422(92)90020-Q). Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/003194229290020Q>>, 1992. Acesso em: 12 de jun. de 2024.

MANZOCCHI, E. *et al.* **Feeding cows with hay, silage, or fresh herbage on pasture or indoors affects sensory properties and chemical composition of milk and cheese.** Journal of Dairy Science. 104. 10.3168/jds.2020-19738. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002203022100268X>>, 2021. Acesso em: 02 de jul. de 2024.

MEDEIROS CARVALHO, M.; DE DEA LINDNER, J.; FARIÑA, L. O. **The production of Artisanal Colonial-type Cheese from Seara city, Santa Catarina state, with regard to Brazilian regulation.** Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora, v. 70, n. 5, p. 253-261, set/out, 2015. DOI: 10.14295/2238-6416.v70i5.463. Disponível em: <<https://revistadoilct.com.br/rilct/article/viewFile/463/382>>, 2015. Acesso em: 16 de jul. de 2024.

MEILGAARD, M.; CIVIL, G. V.; CARR, B. T. **Técnicas de Avaliação Sensorial**. Janeiro de 2016. DOI: 10.1201/9781439832271 Edição: 5ª Editora: CRC Press Número de série: 978-1-4822-1690-5 disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/283992744\\_Sensory\\_Evaluation\\_Techniques](https://www.researchgate.net/publication/283992744_Sensory_Evaluation_Techniques)>, 2016. Acesso em: 25 de jun. de 2024.

MELLO, R. H.; *et al.* **Temperatura de queijos Minas frescal expostos a venda em comércio varejista**. PUBVET, 15, 188. Disponível em: <<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20210423077>>, 2021. Acesso em 28 de jun. de 2024.

MENEZES, M. F. C. *et al.* **Microbiota e conservação do leite**. Revista Eletrônica Em Gestão, Educação E Tecnologia Ambiental. 18, 76–89. <https://doi.org/10.5902/2236117013033>. Disponível em: <<https://periodicos.ufsm.br/reget/article/view/13033>>, 2014. Acesso em: 28 de jun. de 2024.

MISHRA, A. P.; *et al.* Combination of essential oils in dairy products: A review of their functions and potential benefits. **LWT - Food Science and Technology**, 133 110116. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0023643820311051>>, 2020. Acesso em: 29 de jun. de 2024.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA (MAPA). **Métodos oficiais para análise de produtos de origem animal**. 1 ed. 2022. Disponível em <[www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/lfd/legislacao-metodos-da-rede-lfd/poa/metodos\\_oficiais\\_para\\_analise\\_de\\_produtos\\_de\\_origem\\_animal-1a-ed-2022assinado](http://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/lfd/legislacao-metodos-da-rede-lfd/poa/metodos_oficiais_para_analise_de_produtos_de_origem_animal-1a-ed-2022assinado)>, 2022. Acesso em 18 de jun. de 2024.

MORETTO, E. **Introdução à ciência de alimentos**., “2” ed., Florianópolis, SC, UFSC, 237p. Disponível em: <<https://search.worldcat.org/pt/title/Introducao-a-ciencia-de-alimentos/oclc/60346958>>, 2008. Acesso em: 28 de jun. de 2024.

MOSCHOVAS, M. *et al.* **A Cross-Sectional Study of Risk Factors Affecting Milk Quality in Dairy Cows**. Animals (Basel). 2023 Nov 10;13(22):3470. doi: 10.3390/ani13223470. PMID: 38003088; PMCID: PMC10668648. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10668648/>>, 2023. Acesso em: 14 de jul. de 2024.

MOTA, V. de S.; TURRINI, R. N. T.; POVEDA, V. de B. **Antimicrobial activity of Eucalyptus globulus oil, xylitol and papain: a pilot study**. Revista Da Escola De Enfermagem da USP, 49(2), 0216–0220. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0080-623420150000200005>>, 2015. Acesso em: 26 de jun. de 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE/AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - MS/ANVS. **Instrução Normativa- IN nº161, de 1º de julho de 2022**. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Disponível em: <[https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN\\_161\\_2022\\_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2](https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2)>, 2022. Acesso em 08 de jul. de 2024.

NERO, L. A.; Milimani, A.; Almeida T. T.; Ferreira L. R.; Camargo A. C.; Yamatogi R. S.; Antonio F. Carvalho, A. F.; Call, D. R. **Lactic microbiota of the minas artisanal cheese produced in the serro region, Minas Gerais, Brazil**, LWT. Volume 148, 111698, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111698>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643821008513>>, 2021. Acesso em: 09 de jul. de 2024.

OLIVEIRA, X. S. M.; Palma, A. S. V.; Reis, B. R.; Franco, C. S. R.; Marconi, A. P.; Shiozaki, F. A. **A inclusão dos óleos de soja e linhaça na dieta de vacas leiteiras em lactação torna o perfil de ácidos graxos do leite nutricionalmente mais saudável para a dieta humana**. PLoS ONE 16(2): E0246357. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246357>. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33561133/>>, 2021. Acesso em 27 de jun. de 2024.

OLIVEIRA, W. P. **Formulações de óleos essenciais por processos de micro e nanoencapsulação**. Disponível em: <[www.sboe.net.br/files/ANAIIS--11--SBOE.pdf](http://www.sboe.net.br/files/ANAIIS--11--SBOE.pdf)>, 2023. Acesso em 25 e jun. de 2024.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA - FAO. **Sustainable agri-food value chains: How policies can support the shift towards more resilient food systems**. Disponível em: <<https://www.fao.org/dairy-production-products/production/en/>>, 2021. Acesso em 08 de jun. de 2024.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS PARA A ALIMENTAÇÃO E A AGRICULTURA - FAO. **Statistical Yearbook World Food and Agriculture 2022**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>>, 2022. Acesso em 07 de jun. de 2024.

ORTIGOSA, A.; ORTEGA, N.; BARRON, S. L.; ALBISU, M. **A Review of the Preservation of Hard and Semi-Hard Cheeses: Quality and Safety**. International Journal of Environmental Research and Public Health. 18. 9789. 10.3390/ijerph18189789. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8469587/>>, 2021. Acesso em: 21 de jun. de 2024.

OUSSALAH, M. *et al.* **Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes***. Food Control, v. 18, n. 5, p. 414-420. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713505002872>>, 2007. Acesso em: 25 de jun. de 2024.

PARVEZ, S.; MALIK, K. A.; KANG, S.; KIM, H. Y. **Probiotics and their fermented food products are beneficial for health**. Journal of Applied Microbiology, 133(2), 1158-1174. doi:10.1111/jam.15527. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16696665/>>, 2022. Acesso em: 14 de jul. de 2024.

PESAVENTO, G.; DUCCI, B.; NIERI, D.; COMODO, N.; LO NOSTRO, A. **Microbial control of aerosol contaminants in cheese ripening rooms by plant essential oils**. International Journal of Food Microbiology, 132(2-3), 164-169. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2009.04.005. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160509002189>>, 2009. Acesso em 15 de jun. de 2024.

PORCELLATO, D.; ASPHOLM, M.; SKEIE, S. B.; MONSHAUGEN, M.; BRENDENHAUG, J.; MELLEGARD, H. **Microbial diversity of consumption milk during processing and storage**. International journal of food microbiology, 266, 21-30. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29161642/>>, 2018. Acesso em: 29 de jun. de 2024.

PROENÇA, A. R. C. **Caracterização físico-química e microbiológica de leite e queijo durante os processos de produção e maturação**. Disponível em: <<https://hdl.handle.net/10400.6/10538>>, 2020. Acesso em: 13 de jul. de 2024.

QUIGLEY, L.; O'SULLIVAN, O.; STANTON, C.; BERESFORD, T. P.; ROSS, R. P.; FITZGERALD, G. F.; COTTER, P.D. **High-throughput sequencing for detection of subpopulations of bacteria not previously associated with artisanal cheeses**. Applied and Environmental Microbiology, 78(16), 5717-5723. DOI:10.1128/AEM.00922-12. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22685131/>>, 2012. Acesso em: 25 de jun. de 2021.

QUIGLEY, L.; O'SULLIVAN, O.; STANTON, C.; BERESFORD, T. P.; ROSS, R. P.; FITZGERALD, G. F.; COTTER, P.D. **A complex microbiota do leite cru**. FEMS microbiology reviews, 37 (5), 664-698. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23808865/>>, 2013. Acesso em: 08 de jun. de 2024.

RANTZSCH, U.; VACCA, G.; DÜCK, R.; GILLISSEN, A. **Anti-inflammatory effects of myrtol standardized and other essential oils on alveolar macrophages from patients with chronic obstructive pulmonary disease**. European Journal of Medical Research, v. 14, n. 4, p. 1, 2009. DOI: <http://doi.org/10.1186/2047-783X-14-S4-205>. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20156758/>>, 2009. Acesso em 04 de jul. de 2024.

RAMADAN, M. M.; ALI, M. M.; GHANEM, K. Z.; EL-GHORABE, A. H. **Óleos essenciais de plantas aromáticas egípcias como antioxidantes e novos agentes anticâncer em linhagens de células cancerígenas humanas**. Grasas aceites [Internet]. 2015Jun.30 [citado 2024Out.1];66(2):e080. Disponível em: <<https://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/1545>>, 2015. Acesso em: 20 de jun. de 2024.

RASSOLI, I.; GACHKAR, L.; YADEGARINIA, D.; BAGHER, R. M.; ALIPOOR, A. S. **Caracterização antibacteriana e antioxidante de óleos essenciais de Mentha piperita e Mentha spicata cultivados no Irã**. Acta Alimentos. Pendurado. 37 :41–52. doi: 10.1556/AAlim.2007.0019. Disponível em: <<https://akjournals.com/view/journals/066/37/1/article-p41.xml>>, 2007. Acesso em: 22 de jun. de 2024.

REMOR, A.; VASCONCELOS, T. C. B.; BELO V.S.; ZANELLA R.; SANTOS E. D.; DICKEL E. L. **Investigação metagenômica em queijos tipo coloniais, produzidos com leite pasteurizado e comercializados no estado do Rio Grande do Sul, Brasil**. Vet. e Zootec. 2021; 28: 001-009. Disponível em: <[https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/veterinaria-e-zootecnia/28-\(2021\)/investigacao-metagenomica-em-queijos-tipo-coloniais-produzidos-com-lei/](https://www.bvs-vet.org.br/vetindex/periodicos/veterinaria-e-zootecnia/28-(2021)/investigacao-metagenomica-em-queijos-tipo-coloniais-produzidos-com-lei/)>, 2021. Acesso em: 27 de jun. de 2024.

RIACHI, L. G.; DE MARIA, C. A. B.; **Peppermint antioxidants revisited**, Food Chemistry, Volume 176, 2015, Pages 72-81, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.028>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030881461401930X>>, 2015. Acesso em: 19 de jun. de 2024.

RIBEIRO, C. G. S., LOPES, F. C. F., GAMA, M. A. S., MORENZ, M. J. F.; ODRIGUEZ, N. M. **Desempenho produtivo e perfil de ácidos graxos do leite de vacas que receberam níveis crescentes de óleo de girassol em dietas à base de capim-elefante**. Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinária E Zootecnia, 66(5), 1513–1521. Doi: <https://doi.org/10.1590/1678-6886>. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/abmvz/a/BVMV5cKtCFRcddxtjMnYS8F/abstract/?lang=pt>>, 2014. Acesso em: 05 de jul. de 2024.

RÍOS, J. L. Óleos essenciais: O que são e como os termos são usados e definidos. In: **Óleos essenciais na preservação, sabor e segurança de alimentos**. Academic Press, 2016. p. 3-10. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780124166417000018>>, 2016. Acesso em: 11 de jul. de 2024.

ROLDAN, B. B.; AMBROSINI, L. B.; BREMM, C.; KROEFF, D., R. **Caracterização do queijo colonial: valorização de um produto tradicional do Sul do Brasil**. Revista Ciência Rural. Tecnologia Alimentar. Doi: <<https://orcid.org/0000-0001-8826-8551>>, 2023. Acesso em: 11 de jul. de 2024.

SANTA CATARINA- DECRETO Nº 362, DE 21 DE NOVEMBRO DE 2019. **Regulamenta a Lei nº 17.486, de 2018, que dispõe sobre a produção e comercialização de queijos artesanais de leite cru e adota outras providências**. Disponível em <<https://leisestaduais.com.br/sc/decreto-n-362-2019-santa-catarina-regulamenta-a-lei-n-17486-de-2018-que-dispoe-sobre-a-producao-e-comercializacao-de-queijos-artesanais-de-leite-cru-e-adota-outras-providencias>>, 2019. Acesso em: 15 de jul. de 2024.

SANTA CATARINA- LEI Nº 18.250, DE 10 DE NOVEMBRO DE 2021. Fonte: ALESC/GCAN. **Dispõe sobre os requisitos exigidos para elaboração do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Colonial Artesanal de Leite Cru e adota outras providências**. Disponível em: <[http://leis.alesc.sc.gov.br/html/2021/18250\\_2021\\_lei.html#:~:text=LEI%20N%C2%BA%2018.250%2C%20DE%2010%20de%20novembro%20de%202021&text=Fonte%3A%20ALESC%20FGCAN.,Cru%20e%20adota%20outras%20provid%C3%Aancias](http://leis.alesc.sc.gov.br/html/2021/18250_2021_lei.html#:~:text=LEI%20N%C2%BA%2018.250%2C%20DE%2010%20de%20novembro%20de%202021&text=Fonte%3A%20ALESC%20FGCAN.,Cru%20e%20adota%20outras%20provid%C3%Aancias)>, 2021. Acesso em: 12 de jun. de 2024.

SANTO, A. D.; LEITE, F.; ANTONIAZZI, F. D. V.; PAGNUSSATT, H.; ANIECEVSKI, E.; HOINOSKI, G.; MIS, G.; MONTAGNA, M. F.; TALIAN, L. E.; RIBEIRO, A. B.; SILVA, A. S. da.; TAVERNARI, F. de C.; PETROLI, T. G. **Evaluation of the use of essential oils of cinnamon, oregano and eucalyptus in drinking water for broilers**. Research, Society and Development, [S. l.], v. 10, n. 8, p. e11210817007, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i8.17007. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/17007>. Acesso em: 11 jul. 2024.



SANTOS, L. G. T. D. **Desenvolvimento e avaliação da qualidade do doce de leite a base de leite de búfala com geleia de goiaba** (Bachelor's thesis). Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/29064?mode=full>>, 2018. Acesso em: 16 de jul. de 2024.

SETTANNI, L.; MOSCHETTI, G. **Bactérias lácticas não iniciadoras usadas para melhorar a qualidade do queijo e fornecer benefícios à saúde**. *Food Microbiology* 27(6): 691–697. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20630311/2010>>, 2010. Acesso em: 14 de jun. de 2024.

SHAABAN H. A. **Óleos essenciais como agentes antimicrobianos: questões de eficácia, estabilidade e segurança para aplicação em alimentos**. Óleos essenciais - compostos bioativos Novas Perspectivas e Aplicações. Disponível em: <[https://books.google.com.br/books?hl=ptBR&lr=&id=UJQtEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA153&ots=IZGcthVIY&sig=DEBAgENo3\\_4aWxSmnf1X5jSMe0&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.br/books?hl=ptBR&lr=&id=UJQtEAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA153&ots=IZGcthVIY&sig=DEBAgENo3_4aWxSmnf1X5jSMe0&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)>, 2020. Acesso em: 15 de jul. de 2024.

SIDEL, J. L., & Stone, H. **The role of sensory evaluation in the food industry**. *Food Quality and Preference*, 4(1-2), 65-73. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/0950-3293\(93\)90314-V](http://dx.doi.org/10.1016/0950-3293(93)90314-V)>, 1993. Acesso em 28 de jun. de 2024.

SILVA, R. B.; PEREIRA, M. N.; ARAUJO, R. C.; SILVA, W. R.; PEREIRA, A. N. **A blend of essential oils improved feed efficiency and affected ruminal and systemic variables of dairy cows**. *Transl. Anim. Sci.* 4:182–193. Disponível em: <<https://academic.oup.com/tas/article/4/1/182/5691455>>, 2020. Acesso em: 14 de jul. de 2024.

SILVA, E. C.; FERNANDES, G. A. A.; MOTA, A. M. O.; PORTO, A. L. F.; CAVALCANTI, M. T. H. **Produção de  $\beta$ -galactosidase por bactérias de ácido láctico usando soro de leite**. *Processo de Engenharia Química Blucher*, v. 1, não. 2, pág. 749-754, 2015. Disponível em: <<https://www.proceedings.blucher.com.br/article-details/16697>>, 2015. Acesso em: 14 de jul. de 2024.

SILVEIRA, A. C.; LAZZAROTTO, M. **Óleos essenciais de espécies de eucaliptos**. EMBRAPA. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/bitstream/item>>, 2021. Acesso em: 10 de jul. de 2024.

SILVEIRA JÚNIOR, J. F.; DE OLIVEIRA, D. F.; BRAGHINI, F.; LOSS, E. M. S.; BRAVO, C. E. C.; TONIAL, I. B. **Caracterização físico-química de queijos coloniais produzidos em diferentes épocas do ano**. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, [S.l.], v. 67, n. 386, p. 67-80, dez. 2013. ISSN 2238-6416. doi:<https://doi.org/10.5935/2238-6416.20120038>. Disponível em: <<https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/239/249>>, 2013. Acesso em: 02 out. 2024.

SMIDDY, M.A.; KELLY, A.L.; HUPPERTZ, T. **Cream and related products, IN: Dairy fats and related products**, Tamime, A.Y.(Ed.). John Wiley and Sons. Cap. 4. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781444316223.ch4>>, 2009. Acesso em: 27 de jun. de 2024.

SOUZA, E. L.; DE BARROS, J. C.; DE OLIVEIRA, C. E. V.; DE CONCEIÇÃO, M. L. **Influence of Oregano and Rosemary Essential Oils on the Growth and Mycotoxin Production by *Aspergillus flavus* in a Stored Environment of Corn Grains.** Journal of Food Science, 81(2), M311-M319. DOI:10.1111/1750-3841.13179, 2016. Acesso em: 20 de jul. de 2024.

SOUZA, J. P. S.; FEITOSA, R. S.; LIRA, B. S. M. M.; MEDEIROS, M. G. F.; CARVALHO, A. L. M. **Vegetable oils as skin penetration enhancer in topical and transdermal anti-inflammatory formulations: an integrative review aceites vegetales como promotores de la permeación cutánea en formulaciones anti-inflamatorias tópicas y transdérmicas.** v. 10, n. 12, e541101220308, 2021 (CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409. Disponível em: DOI: <<http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i12.20308>>, 2021. Acesso em: 24 de jun. de 2024.

STEINBACH, J.; BURGARDT, V. C. F.; CASTRO CISLAGHI, F. P.; MACHADOLUNKES, A.; MARCHI, J. F.; PRADO, N.V.; MEWS, L.; DE LIMA, V.A.; DALTOÉ, M.L.M. **Understanding consumer, consumption, and regional products: A case study on traditional colonial-type cheese from Brazil, International Journal of Gastronomy and Food Science.** DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100418>. Disponível em: <<https://www.researcher-app.com/paper/8578430>>, 2021. Acesso em: 28 de jun. de 2024.

STEVANOVIC, Z. D.; BOŠNJAK-NEUMÜLLER, J.; PAJIC-LIJAKOVIC, I.; RAJ, J.; VASILJEVIC, M. **Óleos essenciais como aditivos alimentares - perspectivas futuras.** Moléculas, 23 (7), 1717. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30011894/>>, 2018. Acesso em: 17 de jul. de 2024.

TAVARES, A. B.; CAVALCANTI, E. A. N. L. D.; TIMM, C. D.; LIMA, H. G. de.; CERESER, N. D. **Queijo artesanal produzido no sul do Rio Grande do Sul: avaliação físico-química, microbiológica e suscetibilidade a antimicrobianos de isolados de *Staphylococcus coagulase positiva*.** Ciência Animal Brasileira, 20, e47184. <https://doi.org/10.1590/1089-6891v20e-47184>. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cab/a/qDtnGWYNdnFvq96Vbh394DS/?lang=pt>>, 2019. Acesso em: 02 de jul. de 2024.

TYAGI, A. K. & MALIK, A. **Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms.** Food Control, Volume 22, Issue 11, 2011, Pages 1707-1714, ISSN 0956-7135, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.002>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713511001290>>, 2011. Acesso em: 29 e jun. de 2024.

TORNAMBÉ, G.; CORNU, A.; VERDIER-METZ, I.; PRADEL, P.; KONDOYAN, N.; FIGUEREDO, G.; HULIN, S.; MARTIN, B. **Addition of Pasture Plant Essential Oil in Milk: Influence on Chemical and Sensory Properties of Milk and Cheese,** Journal of Dairy Science, Volume 91, Issue 1, 2008, Pages 58-69, ISSN 0022-0302, <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0154>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030208714371>>, 2008. Acesso em: 25 de jun. de 2024.

TORRENT, J. *Nutrição Animal*. **ÓLEOS FUNCIONAIS: UMA ALTERNATIVA COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO**. Disponível em: <39.pdf apamvet.com.br>, 2012. Acesso em: 16 de jul. de 2024.

TRAESEL, C. K.; LOPES, S. T. dos A.; WOLKMER, P.; SCHMIDT, C.; SANTURIO, J. M.; ALVES, S. H. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.41, n.2, p.278-284, fev, 2011 ISSN 0103-8478. **Essential oils as substitutes for antibiotic growth promoters in broilers: soroproteins profile and lipid peroxidation**. Disponível em: <www.scielo.br/j/cr/a/VTSRk8jwGgq68SbfgXmnJS/?format=pdf>, 2011. Acesso em: 02 de jul. de 2024.

TRIBST, A. A. L.; FALCADE, L. T. P.; OLIVEIRA, M. M. **Strategies for raw sheep milk storage in smallholdings: Effect of freezing or long-term refrigerated storage on microbial growth**. Elsevier Inc., [s. l.]. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030219303091>, 2019. Acesso em: 01 de jul. de 2024.

Vieira, S. **Caracterização por análise físico-química e avaliação da influência do teor de gordura na coloração de queijos coloniais**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br:8080/jspui/bitstream/1/16723/1/PG\_COALM\_2014\_1\_09.pdf>, 2013. Acesso em: 13 de jul. de 2024.

VISENTIN, G.; NIERO, G.; BERRY, D. P.; COSTA, A.; CASSANDRO, M.; DE MARCHI, M.; PENASA, M. **Genetic (co)variances between milk mineral concentration and chemical composition in lactating Holstein-Friesian dairy cows**, *Animal*, Volume 13, Issue 3, 2019, Pages 477-486, ISSN 1751-7311, <https://doi.org/10.1017/S1751731118001507>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751731118001507>>, 2019. Acesso em 23 de jun. de 2024.

VYNCKE, B.W. **Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity**. *Fette Seifen Anstrichm., Leinfelden*, v.72, n.12, p.1084-1087. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/lipi.19700721218>>, 1970. Acesso em 15 de jul. de 2024.

WENSEL, C. R.; PLUZNICK, J. L.; SALZBERG, S. L.; SEARS, C. L. **Sequenciamento de próxima geração: insights para avançar investigações clínicas do microbioma**. *The Journal of clinical investigation*, 132 (7). Disponível em: <<https://www.jci.org/articles/view/154944>>, 2022. Acesso em: 12 de jul. de 2024.

WOLFE, B. E.; BUTTON, J. E.; SANTARELLI, M.; DUTTON, R. J. **Cheese rind communities provide tractable systems for in situ and in vitro studies of microbial diversity**. *Cell*, 158(2), 422-433. DOI:10.1016/j.cell.2014.05.041, 2014. ZACARCHENCO P. B.; SPADOTI L. M.; SILVA A. T.; FERMA – A. e. A. G. *Creme de leite: aspectos de mercado, tecnológicos e legais*. Disponível em: <<https://cienciadoleite.com.br/noticia/246/creme-de-leite-aspectos-de-mercado-tecnologicos-e-legais>>, 2014. Acesso em: 18 de jul. de 2024.

## APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO CATA PARA LEITE

Código da amostra: \_\_\_\_\_

**1º Passo) Você** está recebendo uma amostra de leite. Observe e experimente a amostra. Dê uma nota para cada atributo listado abaixo:

9	Gostei extremamente	Textura: _____
8	Gostei muito	Sabor: _____
7	Gostei moderadamente	Acidez: _____
6	Gostei ligeiramente	Avaliação geral: _____
5	Não gostei nem desgostei	
4	Desgostei ligeiramente	
3	Desgostei moderadamente	
2	Desgostei muito	
1	Desgostei extremamente	

**2º Passo) Você** compraria este produto? Marque um “x” na opção que representa sua intenção de compra:

<input type="checkbox"/>	Sim, certamente compraria
<input type="checkbox"/>	Sim, provavelmente compraria
<input type="checkbox"/>	Talvez sim, talvez não
<input type="checkbox"/>	Provavelmente não compraria
<input type="checkbox"/>	Certamente não compraria

**3º Passo)** Marque com um “x” as palavras que você associa a este produto:

<input type="checkbox"/> Gosto amargo	<input type="checkbox"/> Sabor á pasto/campo
<input type="checkbox"/> Leite cru	<input type="checkbox"/> Sabor estranho
<input type="checkbox"/> Leite vendido em supermercado	<input type="checkbox"/> Adstringente (amarra a boca)
<input type="checkbox"/> Doce	<input type="checkbox"/> Aguado
<input type="checkbox"/> Sabor de ervas	<input type="checkbox"/> Cremoso
<input type="checkbox"/> Opaco	<input type="checkbox"/> Brilhante
<input type="checkbox"/> Ácido	<input type="checkbox"/> Outros: _____
<input type="checkbox"/> Homogêneo	_____
<input type="checkbox"/> Gorduroso	_____
<input type="checkbox"/> Curral/silagem	
<input type="checkbox"/> Neutro	

### LEITE IDEAL:

Marque com um “X” todas as características que você acha importante encontrar em um “leite integral”:

<input type="checkbox"/> Homogêneo	<input type="checkbox"/> Viscoso
<input type="checkbox"/> Rancoso (gordura velha)	<input type="checkbox"/> Gosto amargo
<input type="checkbox"/> Brilhante	<input type="checkbox"/> Grumos
<input type="checkbox"/> Sabor de leite	<input type="checkbox"/> Doce
<input type="checkbox"/> Líquido	<input type="checkbox"/> Adstringente (amarra a boca)
<input type="checkbox"/> Aguado	<input type="checkbox"/> Gorduroso
<input type="checkbox"/> Cremoso	<input type="checkbox"/> Outros: _____
<input type="checkbox"/> Ácido	_____
<input type="checkbox"/> Opaco	_____

### PERFIL DEMOGRÁFICO E CONSUMO:

Gênero: ☒ Feminino ☐ Masculino ☐ Prefiro não declarar - Idade: \_\_\_\_\_ anos

Frequência que consome leite:

☒ +1x na semana ☐ 1x na semana ☐ 1x mês ☐ raramente

Tipo de leite que mais consome (marque 1 opção em cada linha):

Teor Gordura: ☒ Integral ☐ Semi desnatado ☐ Desnatado

## APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO CATA PARA CREME DE LEITE

**Código da amostra:** \_\_\_\_\_

**Passo)** Você está recebendo uma amostra de creme de leite. Observe e experimente a amostra. Dê uma nota para cada atributo lista aixo:

9	Gostei extremamente	Textura: _____
8	Gostei muito	Sabor: _____
7	Gostei moderadamente	Acidez: _____
6	Gostei ligeiramente	Avaliação geral: _____
5	Não gostei nem desgostei	
4	Desgostei ligeiramente	
3	Desgostei moderadamente	
2	Desgostei muito	
1	Desgostei extremamente	

**Passo)** Você compraria este produto? Marque um "x" na opção que representa sua intenção de compra:

<input type="checkbox"/>	Sim, certamente compraria
<input type="checkbox"/>	Sim, provavelmente compraria
<input type="checkbox"/>	Talvez <del>sim</del> , talvez <del>não</del>
<input type="checkbox"/>	Provavelmente <del>não</del> compraria
<input type="checkbox"/>	Certamente <del>não</del> compraria

**Passo)** Marque com um "x" as palavras que você associa a este produto:

<input type="checkbox"/> Homogêneo	<input type="checkbox"/> Sabor estranho
<input type="checkbox"/> Doce	<input type="checkbox"/> Brilhante
<input type="checkbox"/> Sabor de leite	<input type="checkbox"/> Manteiga
<input type="checkbox"/> Sabor de ervas	<input type="checkbox"/> Gorduroso
<input type="checkbox"/> Gosto amargo	<input type="checkbox"/> Neutro
<input type="checkbox"/> Curral/silagem	<input type="checkbox"/> Cremoso
<input type="checkbox"/> Ácido	<input type="checkbox"/> Outros: _____
<input type="checkbox"/> Rançoso (gordura velha)	_____
<input type="checkbox"/> Sabor à pasto/campo	_____
<input type="checkbox"/> Amarelo	
<input type="checkbox"/> Creme de leite vendido em supermercado	

**CREME DE LEITE IDEAL:**

Marque com um "X" todas as características que você acha importante encontrar em um "creme de leite":

<input type="checkbox"/> Homogêneo	<input type="checkbox"/> Viscoso
<input type="checkbox"/> Rançoso (gordura velha)	<input type="checkbox"/> Gosto amargo
<input type="checkbox"/> Brilhante	<input type="checkbox"/> Grumos
<input type="checkbox"/> Sabor de leite	<input type="checkbox"/> Doce
<input type="checkbox"/> Líquido	<input type="checkbox"/> Adstringente (amarra a boca)
<input type="checkbox"/> Aguado	<input type="checkbox"/> Gorduroso
<input type="checkbox"/> Cremoso	<input type="checkbox"/> Outros: _____
<input type="checkbox"/> Ácido	_____
<input type="checkbox"/> Opaco	_____

**PERFIL DEMOGRÁFICO E CONSUMO:**

**Gênero:** ☐ Feminino ☐ Masculino ☐ Prefiro não declarar

**Idade:** \_\_\_\_\_ anos

**Frequência que consome creme de leite:**

☐ +1x na semana ☐ 1x na semana ☐ 1x mês ☐ raramente

**Tipo de creme de leite que mais consome (marque 1 opção em cada linha):**

1. Teor Gordura: ☐ Integral ☐ Gourmet ☐ Desnatado

2. Textura: ☐ Consistente ☐ Firme ☐ Levemente consistente

3. Sabores: ☐ Natural ☐ Outro

## APÊNDICE C - QUESTIONÁRIO CATA PARA QUEIJO COLONIAL

Código da amostra: \_\_\_\_\_

1º Passo) Você está recebendo uma amostra de queijo colonial. Observe e experimente a amostra. Dê uma nota para cada atributo listado abaixo:

9	Gostei extremamente	Textura: _____
8	Gostei muito	Sabor: _____
7	Gostei moderadamente	Acidez: _____
6	Gostei ligeiramente	Avaliação geral: _____
5	Não gostei nem desgostei	
4	Desgostei ligeiramente	
3	Desgostei moderadamente	
2	Desgostei muito	
1	Desgostei extremamente	

2º Passo) Você compraria este produto? Marque um "x" na opção que representa sua intenção de compra:

<input type="checkbox"/>	Sim, certamente compraria
<input type="checkbox"/>	Sim, provavelmente compraria
<input type="checkbox"/>	Talvez sim, talvez não
<input type="checkbox"/>	Provavelmente não compraria
<input type="checkbox"/>	Certamente não compraria

3º Passo) Marque com um "x" as palavras que você associa a este produto:

<input type="checkbox"/> Homogêneo	<input type="checkbox"/> Fermentado
<input type="checkbox"/> Queijo fresco	<input type="checkbox"/> Amarelo
<input type="checkbox"/> Sabor de ervas	<input type="checkbox"/> Cremoso
<input type="checkbox"/> Gosto amargo	<input type="checkbox"/> Ácido
<input type="checkbox"/> Picante	<input type="checkbox"/> Gorduroso
<input type="checkbox"/> Queijo colonial comum	<input type="checkbox"/> Rançoso (gordura velha)
<input type="checkbox"/> Sabor à pasto/campo	<input type="checkbox"/> Outros: _____
<input type="checkbox"/> Curral/silagem	_____
<input type="checkbox"/> Maturado	_____
<input type="checkbox"/> Sabor estranho	_____

### LEITE IDEAL:

Marque com um "X" todas as características que você acha importante encontrar em um "queijo ideal":

<input type="checkbox"/> Homogêneo	<input type="checkbox"/> Viscoso
<input type="checkbox"/> Rançoso (gordura velha)	<input type="checkbox"/> Gosto amargo
<input type="checkbox"/> Brilhante	<input type="checkbox"/> Grumos
<input type="checkbox"/> Sabor de leite	<input type="checkbox"/> Doce
<input type="checkbox"/> Líquido	<input type="checkbox"/> Adstringente (amarra a boca)
<input type="checkbox"/> Aguado	<input type="checkbox"/> Gorduroso
<input type="checkbox"/> Cremoso	<input type="checkbox"/> Outros: _____
<input type="checkbox"/> Ácido	_____
<input type="checkbox"/> Opaco	_____

### PERFIL DEMOGRÁFICO E CONSUMO:

Gênero: ☐ Feminino ☐ Masculino ☐ Prefiro não declarar

Idade: \_\_\_\_\_ anos

Frequência que consome queijo:

☐ +1x na semana ☐ 1x na semana ☐ 1x mês ☐ raramente

Tipo de queijo que mais consome (marque 1 opção em cada linha):

1. Teor Gordura:	<input type="checkbox"/> Gordo	<input type="checkbox"/> Intermediário	<input type="checkbox"/> Magro
2. Textura:	<input type="checkbox"/> Firme	<input type="checkbox"/> Semi macio	<input type="checkbox"/> Macio
3. Sabor:	<input type="checkbox"/> Suave	<input type="checkbox"/> Levemente marcante	<input type="checkbox"/> Marcante
4. Tipo:	<input type="checkbox"/> Colonial	<input type="checkbox"/> Mussarela	<input type="checkbox"/> Brie

## APÊNDICE D – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O(a) senhor(a) está sendo convidado a participar de uma pesquisa de mestrado intitulada Composição e qualidade do leite e aspectos tecnológicos relacionados a derivados lácteos em Santa Catarina, que fará avaliação, tendo como objetivo produzir queijos coloniais e creme de leite a partir de leite de vacas alimentadas ou não com óleos essenciais e, ainda, submetidos à diferentes processamentos, para caracterização de sua composição e microbioma: - Produzir cremes de leite advindos de vacas tratadas ou não com óleos essenciais, para detectar ou não sua presença nesse produto com alta concentração de gordura e para nortear a análise sensorial dos queijos;

- Elaborar queijos tipo colonial com leite pasteurizado, advindos de vacas tratadas ou não com óleos essenciais;

- Avaliar se a adição ou não de óleos essenciais (a base de eucalipto e menta) altera a composição e/ou características organolépticas dos queijos;

- Analisar se os tratamentos alteram o microbioma dos queijos coloniais, bem como descrevê-los para este tipo de produto tradicional de Santa Catarina. Serão previamente marcados a data e horário para as avaliações, utilizando questionário. Estas medidas serão realizadas no SENAI Chapecó e também nas dependências da UDESC CEO. Não é obrigatório responder a todas as perguntas.

O(a) Senhor(a) e seu/sua acompanhante não terão despesas e nem serão remunerados pela participação na pesquisa. Todas as despesas decorrentes de sua participação serão ressarcidas. Em caso de danos, decorrentes da pesquisa será garantida a indenização.

Os riscos destes procedimentos serão mínimos por envolver a ingestão de derivados lácteos, bem como a forma de minimizá-los caso ocorram).

A sua identidade será preservada pois cada indivíduo será identificado por um número.

Os benefícios e vantagens em participar deste estudo serão elucidar se o uso de óleos essenciais de menta e eucalipto na suplementação de vacas leiteiras, causa alguma alteração nas características sensoriais dos derivados lácteos.

As pessoas que estarão acompanhando os procedimentos serão os pesquisadores ..... , profissão estudante do curso....., sob supervisão do professor doutor.....

O(a) senhor(a) poderá se retirar do estudo a qualquer momento, sem qualquer tipo de constrangimento.

Solicitamos a sua autorização para o uso de seus dados para a produção de artigos técnicos e científicos. A sua privacidade será mantida através da não-identificação do seu nome.

Este termo de consentimento livre e esclarecido é feito em duas vias, sendo que uma delas ficará em poder do pesquisador e outra com o participante da pesquisa.

NOME DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL PARA CONTATO:

NÚMERO DO TELEFONE:

ENDEREÇO:

ASSINATURA DO PESQUISADOR:

Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos – CEPESH/UDESC

Av. Madre Benvenuta, 2007 – Itacorubi – Florianópolis – SC -88035-901

Fone/Fax: (48) 3664-8084 / (48) 3664-7881 - E-mail: [cep.udesc@gmail.com](mailto:cep.udesc@gmail.com)

CONEP- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

SRTV 701, Via W 5 Norte – lote D - Edifício PO 700, 3º andar – Asa Norte - Brasília-DF - 70719-040

Fone: (61) 3315-5878/ 5879 – E-mail: [conep@saude.gov.br](mailto:conep@saude.gov.br)

### TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaro que fui informado sobre todos os procedimentos da pesquisa e, que recebi de forma clara e objetiva todas as explicações pertinentes ao projeto e, que todos os dados a meu respeito serão sigilosos. Eu compreendo que neste estudo, as medições dos experimentos/procedimentos de tratamento serão feitas em mim, e que fui informado que posso me retirar do estudo a qualquer momento.

Nome por extenso \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

Local: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

## ANEXO A - LEI Nº 18.250, DE 10 DE NOVEMBRO DE 2021

Procedência: Dep. João Amin

Natureza: [PL./0251.7/2021](#)

DOE: [21.644](#), de 11/11/21

Fonte: ALESC/GCAN.

Dispõe sobre os requisitos exigidos para elaboração do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Colonial Artesanal de Leite Cru e adota outras providências.

O PRESIDENTE DA ASSEMBLEIA LEGISLATIVA, NO EXERCÍCIO DO CARGO DE GOVERNADOR DO ESTADO DE SANTA CATARINA,

Faço saber a todos os habitantes deste Estado que a Assembleia Legislativa decreta e eu sanciono a seguinte Lei:

Art. 1º Esta Lei dispõe sobre os requisitos exigidos para elaboração do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Colonial Artesanal de Leite Cru, de que trata o art. 4º da Lei nº [17.486](#), de 16 de janeiro de 2018.

Parágrafo único. Para os fins desta Lei, considera-se:

I – Queijo Colonial Artesanal: aquele elaborado por métodos tradicionais, com vinculação territorial, obtido por coagulação do leite cru, fresco ou não, integral ou parcialmente desnatado, por meio de coalho ou outras enzimas coagulantes, complementada ou não pela adição de fermento lácteo específico e/ou alimento/substância alimentícia;

II – Métodos tradicionais: técnicas consolidadas de produção com conhecimento eficiente construído a partir da prática cotidiana, envolvendo todo o processo de obtenção da matéria-prima, produção e comercialização, excluindo a utilização de processamentos de alta tecnologia e o uso de aditivos e/ou coadjuvantes de tecnologia de fabricação com origem e/ou obtenção não naturais; e

III – vinculação territorial: relaciona-se aos fatores edafoclimáticos de uma determinada região geográfica somados à microbiota endógena e à intervenção humana no processo tecnológico que serão responsáveis por expressar as características globais do queijo artesanal.

Art. 2º O Queijo Colonial Artesanal poderá ter as seguintes denominações de venda:

I – Queijo Colonial Artesanal: quando for produzido pelo método tradicional;

II – Queijo Colonial Artesanal Amanteigado: quando for produzido com leite integral e seu processo tecnológico resultar em uma consistência com característica amanteigada;

III – Queijo Colonial Artesanal com (especificado o alimento e/ou condimento/tempero adicionado): quando for produzido adicionado de um alimento e/ou condimento/tempero;

IV – Queijo Colonial Artesanal com Mofo (especificado o tipo de mofo utilizado: azul, branco ou outro): quando for produzido utilizando-se mofo;



V – Queijo Colonial Artesanal ao Vinho (quando se tratar de outra bebida, a mesma deverá ser especificada): quando for produzido utilizando-se bebida durante o processo de fabricação; e

VI – Queijo Colonial Artesanal Defumado: quando o queijo for defumado.

Parágrafo único. O Queijo Colonial Artesanal elaborado a partir de leite de espécies não bovinas ou a partir de leite de mais de uma espécie deverá conter, junto à denominação de venda, as espécies de animais cujos leites foram utilizados.

Art. 3º No painel principal do rótulo do Queijo Colonial Artesanal deverá conter a informação da região ou microrregião produtora, ou o Município de origem, bem como a de que é elaborado com leite cru.

Art. 4º O Queijo Colonial Artesanal terá a seguinte composição:

I – ingredientes obrigatórios:

- a) leite cru;
- b) coalho/coagulante; e
- c) sal; e

II – ingredientes opcionais:

- a) fermento lácteo (bactérias, leveduras e fungos filamentosos);
- b) vinho ou outra bebida permitida;
- c) corante obtido de forma natural;
- d) tempero/condimento;
- e) alimento (inteiro ou em pedaço); e
- f) outras substâncias alimentícias naturais.

Art. 5º O Queijo Colonial Artesanal deverá apresentar as seguintes características:

I – consistência macia, firme ou dura e textura elástica, amanteigada ou quebradiça;

II – cor amarelo palha a amarelo ouro, sabor ligeiramente ácido ou amendoado e odor lácteo;

III – formato redondo, quadrado ou retangular;

IV – peso variável de 0,4 kg a 8 kg; e

V – cor e textura do ingrediente opcional utilizado.

Art. 6º O Queijo Colonial Artesanal deverá preencher os seguintes requisitos:

I – físico-químicos:

- a) quanto à gordura: semigordo, gordo ou extragordo; e
- b) quanto à umidade: baixa, média ou alta; e

II – microbiológicos: o Queijo Colonial Artesanal deverá atender aos critérios microbiológicos estabelecidos por legislação vigente, de acordo com o teor de umidade a que o produto corresponder.

Parágrafo único. Os padrões microbiológicos utilizados para o queijo colonial serão os estabelecidos pela União que sejam mais compatíveis para o atendimento da produção de queijo a partir de leite cru.

Art. 7º O processo de elaboração de Queijo Colonial Artesanal poderá apresentar as seguintes características distintas:

I – utilização de leite cru, sendo permitida a junção de leite de duas ordenhas sequenciais;

II – desnate do leite opcional de uma das ordenhas quando houver junção de leite de duas ordenhas;

III – salga no leite, na massa ou na superfície do queijo (salga a seco ou em salmoura);

IV – massa crua ou semicozida;

V – prensagem manual ou mecanizada;

VI – maturação em temperatura ambiente ou em temperaturas de refrigeração/climatização (mínima de 5 °C) em um período mínimo de 5 (cinco) dias e suficiente para garantia da inocuidade microbiológica prevista no art. 6º, II;

VII – utilização opcional de utensílios de madeira durante o processo de fabricação e maturação; e

VIII – tratamento opcional da casca com corante obtido de forma natural ou com substância alimentícia.

Art. 8º Os produtores de Queijo Colonial Artesanal, de forma individual ou coletiva, deverão comprovar, por meio de análises microbiológicas laboratoriais, o atendimento aos parâmetros microbiológicos existentes estabelecendo o período de maturação necessário para o tipo de queijo elaborado com objetivo de atender o estabelecido no art. 6º, II.

Parágrafo único. O produtor de Queijo Colonial Artesanal deverá implantar controle de rastreabilidade, especialmente no processo de maturação dos queijos, e assegurar a realização do período de maturação estabelecido para garantir a comercialização de produtos inócuos para a saúde do consumidor.

Art. 9º O Queijo Colonial Artesanal poderá ser comercializado em temperatura ambiente ou em temperaturas de refrigeração a critério do produtor e de acordo com as características do produto.

Art. 10. O Queijo Colonial Artesanal poderá ser acondicionado em embalagem plástica, em películas de uso alimentício, em papel manteiga ou em outro tipo de embalagem aprovada para uso em alimentos.

§ 1º O Queijo Colonial Artesanal poderá ser armazenado e comercializado sem embalagem, desde que transportado em embalagem que assegure sua proteção, segurança e integridade até o ponto de comercialização.

§ 2º No caso previsto no § 1º será necessária a identificação na peça, com marcação em relevo ou utilização de material atóxico, das seguintes informações mínimas:

I – denominação de venda;

II – estabelecimento produtor; e

III – data de fabricação.

§ 3º O produtor também deverá disponibilizar, nos postos de venda ou junto ao queijo, material informativo com as demais informações obrigatórias para o consumidor.

Art. 11. O leite utilizado na elaboração do Queijo Colonial Artesanal deverá cumprir os requisitos de qualidade estabelecidos por legislações específicas vigentes, especialmente no que se refere à contagem de células somáticas (CCS).

Art. 12. O leite antes de ser utilizado na elaboração do Queijo Colonial Artesanal deverá ser submetido ao processo de filtração manual ou mecanizada.

Art. 13. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade do Queijo Colonial Artesanal com critérios mais específicos e regionais poderão ser elaborados e estabelecidos mediante a realização de estudos, desde que haja participação e anuência dos produtores envolvidos ou de seus representantes.

Art. 14. A elaboração do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Colonial Artesanal contará com a participação de uma equipe multidisciplinar composta por produtores envolvidos ou seus representantes, pesquisadores e profissionais especializados no tema.

Art. 15. Até a elaboração do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Colonial Artesanal, fica autorizada a comercialização dos queijos coloniais artesanais que sejam inspecionados pelos serviços de inspeção municipal, estadual ou federal que atendam ao disposto nesta Lei.

Art. 16. Esta Lei entra em vigor na data de sua publicação.

Florianópolis, 10 de novembro de 2021.

**MAURO DE NADAL**

Presidente da Assembleia Legislativa, no exercício do cargo de Governador do Estado

**ANEXO B - LEI Nº 13.860, DE 18 DE JULHO DE 2019**

Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências.

**O PRESIDENTE DA REPÚBLICA** Faço saber que o Congresso Nacional decreta e eu sanciono a seguinte Lei:

Art. 1º Considera-se queijo artesanal aquele elaborado por métodos tradicionais, com vinculação e valorização territorial, regional ou cultural, conforme protocolo de elaboração específico estabelecido para cada tipo e variedade, e com emprego de boas práticas agropecuárias e de fabricação.

§ 1º Para os fins desta Lei, produtor de queijos artesanais ou queijeiro artesanal é aquele que preserva a cultura regional na elaboração de queijos, emprega técnicas tradicionais e observa protocolo de elaboração específico para cada tipo e variedade.

§ 3º Não se consideram queijos artesanais, para os efeitos desta Lei, aqueles feitos em indústrias de laticínios, mesmo que em seu registro no órgão competente os responsáveis tenham obtido autorização para inserir nos rótulos os termos ‘artesanal’ ou ‘tradicional’.

Art. 2º O queijeiro artesanal é responsável pela identidade, pela qualidade e pela segurança sanitária do queijo por ele produzido e deve cumprir os requisitos sanitários estabelecidos pelo poder público.

Parágrafo único. O tempo de cura do queijo feito a partir de leite cru é definido com base no processo tecnológico de produção de cada variedade de queijo, de acordo com suas características.

Art. 3º É permitida a comercialização do queijo artesanal em todo o território nacional, desde que cumpridas as exigências desta Lei.

Parágrafo único. Para efeito de comércio internacional, deverão ser atendidos também os requisitos sanitários específicos do país importador.

Art. 4º Compete ao poder público federal:

I - estabelecer protocolo de elaboração para cada tipo e variedade de queijo artesanal e definir as características de identidade e de qualidade do produto;

Art. 6º A elaboração de queijos artesanais a partir de leite cru fica restrita a queijaria situada em estabelecimento rural certificado como livre de tuberculose e brucelose, de acordo com as normas do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT), ou controlado para brucelose e tuberculose por órgão estadual de defesa sanitária animal, no prazo de até 3 (três) anos a partir da publicação desta Lei, sem prejuízo das demais obrigações previstas em legislação específica.

Art. 7º São requisitos para o reconhecimento de estabelecimento rural produtor de leite para a elaboração de queijo artesanal, nos termos do regulamento:

I - participar de programa de controle de mastite com realização de exames para detecção de mastite clínica e subclínica, inclusive análise periódica do leite da propriedade;

II - implantar programa de boas práticas agropecuárias na produção leiteira;

III - controlar e monitorar a potabilidade da água utilizada nas atividades relacionadas à ordenha; e

IV - implementar a rastreabilidade de produtos.

Art. 8º São requisitos para o reconhecimento de queijaria produtora de queijo artesanal, nos termos do regulamento:

I - implantar programa de boas práticas de fabricação, a fim de garantir a qualidade sanitária e a conformidade dos produtos alimentícios com os regulamentos técnicos, inclusive o monitoramento da saúde dos manipuladores de queijo e do transporte do produto até o entreposto, caso a queijaria estiver a ele vinculada;

II - controlar e monitorar a potabilidade da água utilizada nos processos de elaboração do queijo artesanal; e

III - implementar a rastreabilidade de produtos.

Art. 9º A fiscalização dos estabelecimentos rurais produtores de queijo artesanal e dos produtos neles elaborados deverá ser realizada por órgãos de defesa sanitária animal e de vigilância sanitária federais, estaduais ou municipais, concorrente ou suplementarmente, respeitadas as devidas competências.

Art. 10. O poder público irá atestar e monitorar a conformidade do estabelecimento rural e da queijaria artesanal com o estabelecido nesta Lei, sem cobrança de taxas.

Parágrafo único. O órgão ou a entidade responsável pelo atestado e monitoramento da conformidade referida no **caput** deste artigo deverá:

I - manter atualizada a relação de estabelecimentos rurais e queijeiros artesanais sob sua supervisão;

Art. 11. Os procedimentos e processos de controle de boas práticas, fiscalização e rastreabilidade serão simplificados no caso de pequenos produtores, conforme o regulamento.

Art. 12. Competirá às entidades de defesa sanitária e de assistência técnica e extensão rural orientar o queijeiro artesanal na implantação dos programas de boas práticas agropecuárias de produção leiteira e de fabricação do queijo artesanal.

Art. 13. Esta Lei entra em vigor na data de sua publicação.

Brasília, 18 de julho de 2019; 198º da Independência e 131º da República.

JAIR MESSIAS BOLSONARO

*Luiz Pontel de Souza*

*Tereza Cristina Corrêa da Costa Dias*

*Onyx Lorenzoni*

## ANEXO C - CERTIFICADO DE APROVAÇÃO NO CEUA



Universidade do Estado de Santa Catarina

*Comissão de Ética no  
Uso de Animais*

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Predição e monitoramento da composição e qualidade do leite, com validação de análises em tempo real, e avaliação dos aspectos tecnológicos de derivados lácteos em Santa Catarina.", protocolada sob o CEUA nº 5448251022 (ID 001639), sob a responsabilidade de **Ana Luiza Bachmann Schogor** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (CEUA/UDESC) na reunião de 28/10/2022.

We certify that the proposal "Prediction and monitoring of milk composition and quality, with validation of real time analysis, and evaluation of technological aspects of dairy products in Santa Catarina", utilizing 40 Bovines (40 females), protocol number CEUA 5448251022 (ID 001639), under the responsibility of **Ana Luiza Bachmann Schogor** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the University of Santa Catarina State (CEUA/UDESC) in the meeting of 10/28/2022.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 01/2022 a 09/2024 Área: Zootecnia

Origem:	Animais provenientes de estabelecimentos comerciais		
Espécie:	Bovinos	sexo: Fêmeas	idade: 2 a 10 anos N: 40
Linhagem:	Holandês, Jersey	Peso: 350 a 700 kg	

Lages, 11 de setembro de 2023

José Cristani  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Pedro Volkmer de Castilhos  
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade do Estado de Santa Catarina



## ANEXO D - CERTIFICADO DE APROVAÇÃO NO CEUA – EMENDA.



Universidade do Estado de Santa Catarina

*Comissão de Ética no  
Uso de Animais*

### CERTIFICADO : EMENDA v20/02/2023

Certificamos que a EMENDA (versão de 20/02/2023) da proposta intitulada "Predição e monitoramento da composição e qualidade do leite, com validação de análises em tempo real, e avaliação dos aspectos tecnológicos de derivados lácteos em Santa Catarina. ", CEUA nº 5448251022 (ID 060362), sob a responsabilidade de **Ana Luiza Bachmann Schogor** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos vigentes para sua apresentação, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), sendo assim **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade do Estado de Santa Catarina (CEUA/UDESC) em 24/02/2023.

Término previsto: 09/2024

Origem: Animais provenientes de estabelecimentos comerciais

Espécie: Bovinos	sexo: Fêmeas	idade: 2 a 10 anos	Quantidade e mantida: 40
Linhagem: Holandês, Jersey	Peso: 350 a 700 kg		

#### ANIMAIS UTILIZADOS

Bovinos

Fêmeas

Quantidade  
Aprovada  
80

Quantidade  
Utilizada  
0

Lages, 24 de fevereiro de 2023

*José Cristani*



José Cristani  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade do Estado de Santa Catarina

Pedro Volkmer de Castilhos  
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade do Estado de Santa Catarina

