



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

MONOGRAFIA

Avaliação multidimensional da adição de óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) sobre as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais do queijo coalho

Láiza Gabriela de Oliveira

Recife – PE  
Dezembro/2025



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA

MONOGRAFIA

Avaliação multidimensional da adição de óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) sobre as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais do queijo coalho

Láiza Gabriela de Oliveira  
Graduanda

Profa. Dra. Luciana Felizardo Pereira Soares

Recife – PE  
Dezembro/2025



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Láiza Gabriela de Oliveira  
**Graduanda**

Monografia submetida ao curso de Zootecnia como requisito para obtenção do grau de bacharel em Zootecnia.

Aprovado em 17/12/2025

EXAMINADORES

---

Profa. Dra. Luciana Felizardo Pereira Soares (Orientadora)

---

Profa. Dra. Andreia Fernandes de Souza (Examinadora interna)  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Dra. Michelle Christina Bernardo de Siqueira (Examinadora interna)  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

Profa. Dra. Laura Leandro da Rocha (Suplente)  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Bibliotecário(a): Auxiliadora Cunha – CRB-4 1134

- O48a Oliveira, Láiza Gabriela de.  
Avaliação multidimensional da adição de óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) sobre as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais do queijo coalho / Láiza Gabriela de Oliveira. – Recife, 2025.  
48 f.; il.
- Orientador(a): Luciana Felizardo Pereira Soares.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Zootecnia, Recife, BR-PE, 2025.
- Inclui referências.
1. Composto natural. 2. Maturação. 3. Estabilidade microbiológica. 4. Tomilho I. Soares, Luciana Felizardo Pereira, orient. II. Título

CDD 636

Dedico este trabalho aos meus pais, cujas mãos construíram a estrada que percorro. Este trabalho é dedicado a vocês, que foram os primeiros mestres, os maiores incentivadores e os pilares silenciosos da minha vida. A tranquilidade que me permitiram ter é o maior legado de amor, um presente que carrego no peito.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus pela força e serenidade para superar os desafios ao longo desta jornada.

Meus profundos agradecimentos à minha família, em especial aos meus pais, Jeruza e Reginaldo, cujo incansável esforço e apoio incondicional me permitiram trilhar este caminho e concluir minha graduação com tranquilidade.

Ao meu companheiro, Thiago, pelo constante apoio durante boa parte da minha trajetória universitária. Sua presença foi fundamental para tornar toda essa caminhada mais leve e feliz.

Aos amigos que a universidade me deu: Sabrina, Celina, Vinicius, Gildo, Isaque, Roger, Ricardo, João, Laura e Joéwerson, por todos os momentos de descontração e risadas que tornaram os dias mais alegres. E aos amigos de sempre, Maria Clara, Raphael, Jhenilly, Éwellyn, Rayanne e Mércia, pela amizade e apoio que transcendem as paredes da universidade.

À minha orientadora, a Professora Doutora Luciana Felizardo, pela orientação precisa, pela paciência e pelo incentivo constantes, que foram indispensáveis para a concretização deste trabalho.

Aos professores que, com sua dedicação em transmitir conhecimento, me permitiram aprender a caminhar com minhas próprias pernas. Meu sincero agradecimento a todos que, de alguma forma, contribuíram para a minha formação. Destaco, com gratidão, João Paulo, Marcelo, Kelly, Mércia, Valdson, Carlos e Fernando Porto. E também agradeço ao pós-doutorando Lypson.

À equipe do LabLeite, Raquel, Luciana, Rebeca, Khadja e Willma, pelo apoio essencial, pela amizade e pela valiosa colaboração durante a fase experimental deste trabalho.

Ao LabLeite, como um todo, pelo acolhimento e pela oportunidade de desenvolver minhas habilidades práticas e teóricas. O laboratório foi um espaço fundamental de troca e aprendizado, que contribuiu de forma significativa para a minha formação.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, por se tornar uma verdadeira casa e me proporcionar diversos conhecimentos práticos e teóricos ao longo dessa jornada.

Por fim, ao PET Zootecnia, por ter sido um pilar importante no meu desenvolvimento pessoal e profissional. Agradeço pelas experiências enriquecedoras e pelo ambiente de apoio mútuo que tanto me acrescentou.

## RESUMO

Este estudo avaliou o efeito multidimensional da adição de diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) sobre as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais do queijo coalho, considerando diferentes tempos de maturação. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Qualidade do Leite do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (0, 15, 30, 45 e 60 µL de óleo) e três tempos de maturação (0, 15 e 30 dias). O leite utilizado como matéria-prima atendeu aos padrões físico-químicos e microbiológicos estabelecidos pela legislação. As análises microbiológicas revelaram supressão total de *E. coli* nos tratamentos com 0 e 45 µL de óleo, enquanto no tratamento com 30 µL foi detectada contagem mensurável, fato que pode estar associado a mecanismos como agregação hidrofóbica, saturação de sítios de ação e sequestro lipídico, mas também à possibilidade de contaminação pós-processamento. Em todos os tratamentos e tempos, não foi observada contagem de *Staphylococcus aureus*. A presença de *Listeria monocytogenes* manteve-se em níveis baixos. Os resultados indicam que a maturação foi a principal barreira microbiológica do produto, enquanto o óleo essencial modulou a resposta de *E. coli* de forma dependente da concentração e da interação com a matriz do queijo. A concentração de 45 µL demonstrou oferecer a melhor estabilidade antimicrobiana e microestrutural. Na análise sensorial, aplicou-se o teste de Friedman, considerando o avaliador como bloco e o tratamento como fator fixo, em que foram observadas tendências monotônicas crescentes em função da concentração, sugerindo uma relação dose-resposta. A intenção de compra foi mais pronunciada aos 15 dias de maturação, indicando preferência dos consumidores por produtos com aroma mais acentuado. Conclui-se, então, que a adição de óleo essencial de tomilho ao queijo coalho apresenta-se como uma alternativa promissora para aprimorar características organolépticas e auxilia na estabilidade microbiológica, sendo a concentração de 45 µL a mais eficaz para esse controle além de atuar na fração estrutural do queijo, influenciando a mudança físico-química do produto durante sua maturação, onde sua aplicação tecnológica deve avaliar com cautela as interações complexas que surgem dessa matriz de composição muito variada.

**Palavras-chave:** Composto natural; maturação; estabilidade microbiológica; tomilho.

## ABSTRACT

This study evaluated the multidimensional effect of adding different concentrations of thyme essential oil (*Thymus vulgaris*) on the physicochemical, microbiological, and sensory characteristics of "queijo coalho", considering different maturation times. The research was conducted at the Milk Quality Laboratory of the Animal Science Department at the Federal Rural University of Pernambuco (Universidade Federal Rural de Pernambuco), using a completely randomized design with five treatments (0, 15, 30, 45, and 60  $\mu\text{L}$  of oil) and three maturation times (0, 15, and 30 days). The milk used as raw material met the physicochemical and microbiological standards established by legislation. Microbiological analyses revealed total suppression of *E. coli* in the treatments with 0 and 45  $\mu\text{L}$  of oil, while a measurable count was detected in the 30  $\mu\text{L}$  treatment. This finding may be associated with mechanisms such as hydrophobic aggregation, saturation of action sites, and lipid sequestration, but also with the possibility of post-processing contamination. No *Staphylococcus aureus* count was observed in any treatment or time point. The presence of *Listeria monocytogenes* remained at low levels. The results indicate that maturation was the main microbiological barrier of the product, while the essential oil modulated the *E. coli* response in a manner dependent on the concentration and interaction with the cheese matrix. The 45  $\mu\text{L}$  concentration proved to offer the best antimicrobial and microstructural stability. In the sensory analysis, the Friedman test was applied, considering the evaluator as a block and the treatment as a fixed factor, in which monotonically increasing trends were observed as a function of concentration, suggesting a dose-response relationship. The purchase intent was more pronounced at 15 days of maturation, indicating consumer preference for products with a more accentuated aroma. It is concluded, then, that the addition of thyme essential oil to coalho cheese presents a promising alternative to enhance organoleptic characteristics and aids in microbiological stability, with a concentration of 45  $\mu\text{L}$  being the most effective for this control. It also acts on the structural fraction of the cheese, influencing the physicochemical changes of the product during its maturation, where its technological application must carefully evaluate the complex interactions that arise from this matrix with a very varied composition.

**Keywords:** Natural compound; maturation; microbiological stability; thyme.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - Comportamento de *Escherichia coli* nos queijos elaborados com diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho ao longo do período de maturação.

**Figura 2.** Tendência das médias sensoriais para a variável “Odor tomilho” influenciados pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ), nos tempos 0 e 15 dias de maturação.

**Figura 3.** Tendência das médias sensoriais para a variável “Sabor tomilho” influenciadas pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ), nos tempos 0 e 15 dias de maturação.

**Figura 4.** Tendência das médias sensoriais para a variável “Maciez” influenciadas pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ), nos tempos 0 e 15 dias de maturação.

**Figura 5.** Tendência das médias sensoriais para a variável “Umidade” influenciadas pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ), nos tempos 0 e 15 dias de maturação.

**Figura 6.** Tendência das médias sensoriais para a variável “Sabor salgado” influenciados pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ), nos tempos 0 e 15 dias de maturação.

**Figura 7.** Tendência das médias sensoriais para a variável “Sabor ácido” influenciados pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ), nos tempos 0 e 15 dias de maturação.

**Figura 8.** Tendência das médias para a intenção de compra aos 15 dias de maturação influenciados pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ).

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** - Estudos sobre os efeitos da inclusão do OE de tomilho em diferentes concentrações.

**Tabela 2** - Composição química do óleo de tomilho (*Thymus vulgaris*).

**Tabela 3** - Composição físico-química e microbiológica do leite pré e pós pasteurização.

**Tabela 4** - Variáveis físico-químicas avaliadas em decorrência da inclusão de diferentes concentrações do óleo de *Thymus vulgaris* sobre o tempo de maturação.

**Tabela 5** - Perfil microbiológico de queijos coalho elaborados com diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho ao longo do período de maturação.

**Tabela 6** - Atributos sensoriais avaliados em decorrência da adição de diferentes concentrações do óleo essencial de tomilho em dois períodos de maturação.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
2.1. Objetivo Geral.....	13
2.2. Objetivos específicos.....	13
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
3.1 Queijo coalho: origem, importância e características tecnológicas.....	13
3.2 Bioquímica da maturação.....	15
3.3 Tomilho ( <i>Thymus vulgaris</i> ) como aditivo natural.....	16
3.4 Benefícios do tomilho adicionado ao queijo.....	18
3.5 Impacto nas características físico-químicas do queijo coalho.....	19
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
4.1 Recepção do leite.....	22
4.2 Pasteurização lenta do leite e produção.....	22
4.3 Análises físico-químicas.....	24
4.3.1 Prova do alizarol.....	24
4.3.2 Umidade.....	25
4.3.3 Densidade relativa.....	25
4.3.4 Cinzas.....	25
4.3.5 Proteína total.....	25
4.3.6 Gordura.....	25
4.3.7 Acidez titulável.....	26
4.4 Análises microbiológicas.....	26
4.4.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
4.4.2 <i>Salmonella spp.</i> .....	27
4.4.3 <i>Escherichia coli</i> .....	27
4.4.4 <i>Listeria monocytogenes</i> .....	27
4.5 Análise sensorial.....	28
4.5.1 Método de análise sensorial.....	28
4.5.2 Preparação e apresentação das amostras.....	28
4.5.3 Escalas de avaliação.....	28
4.6 Análise estatística.....	28

<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>29</b>
<b>6. CONCLUSÃO .....</b>	<b>41</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>42</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O queijo coalho é um produto tradicional do Nordeste brasileiro, amplamente reconhecido por seu sabor característico, textura firme e forte vínculo cultural com a região, sendo consumido tanto *in natura* quanto assado (Nassu *et al.*, 2006). Sua produção artesanal representa um importante patrimônio gastronômico e socioeconômico, conforme destacam Da Silva e Menezes (2023), que ressaltam o valor simbólico do queijo coalho na identidade regional. Do ponto de vista tecnológico, trata-se de um queijo semiduro e de alta umidade, geralmente elaborado a partir de leite cru, característica que confere singularidade sensorial ao produto, mas também impõe desafios sanitários significativos (Andrade *et al.*, 2021).

Apesar de sua relevância cultural e comercial, a produção artesanal do queijo coalho ainda enfrenta limitações quanto à qualidade microbiológica e à estabilidade durante o armazenamento. A ausência de tratamentos térmicos mais rigorosos no processo tradicional favorece a contaminação por microrganismos patogênicos, reduzindo a vida útil e dificultando a padronização necessária à comercialização em larga escala (Silva, 2019). Espécies como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* têm sido frequentemente detectadas em amostras de queijarias artesanais, representando risco à saúde pública e barreira para certificações de qualidade (Oliveira *et al.*, 2022). Além disso, processos de oxidação lipídica contribuem para a degradação de compostos voláteis e ácidos graxos, resultando em alterações indesejáveis de sabor, aroma e valor nutricional (Santos *et al.*, 2020).

Nesse contexto, cresce o interesse por alternativas naturais capazes de prolongar a vida útil dos produtos lácteos, sem comprometer suas propriedades sensoriais tradicionais. Entre essas alternativas, o tomilho (*Thymus vulgaris*) destaca-se por seu óleo essencial rico em compostos fenólicos, como timol e carvacrol, responsáveis por expressivas atividades antimicrobianas e antioxidantes (Jakiemiū *et al.*, 2010). Esses compostos atuam na desestabilização da membrana celular bacteriana, aumentando sua permeabilidade e provocando extravasamento do conteúdo intracelular, mecanismo particularmente eficaz contra bactérias Gram-positivas (Hyldgaard *et al.*, 2012). Estudos relatam ainda que o óleo essencial de tomilho reduz a oxidação lipídica e retarda o aparecimento de rancidez em produtos lácteos, contribuindo para a manutenção de suas propriedades físico-químicas e sensoriais (Carvalho *et al.*, 2015).

A aplicação de compostos naturais como o óleo essencial de tomilho na fabricação de queijo coalho representa, portanto, uma estratégia promissora para aprimorar sua segurança microbiológica e prolongar sua estabilidade sem recorrer a aditivos sintéticos. Diante disso, o

presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito da adição de diferentes concentrações de óleo essencial de *Thymus vulgaris* sobre as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais do queijo coalho.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar o efeito da adição do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) nas características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais do queijo coalho em diferentes tempos de maturação.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Determinar as características físico-químicas dos queijos, verificando possíveis alterações associadas ao uso do óleo essencial.
- Avaliar a qualidade microbiológica dos tratamentos, com ênfase na contagem de *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Salmonella spp.*
- Realizar análise sensorial dos produtos desenvolvidos, verificando a aceitação e preferência dos consumidores.

## **3. REVISÃO DE LITERATURA**

### **3.1. Queijo coalho: origem, importância e características tecnológicas**

O queijo coalho é um dos laticínios mais tradicionais e culturalmente significativos da região Nordeste do Brasil, sendo amplamente consumido *in natura* ou assado, tanto em contextos urbanos quanto rurais. Com base na obra "Queijo Coalho Artesanal do Nordeste do Brasil", organizada por Cavalcante (2017), a origem do queijo coalho está intrinsecamente ligada ao período colonial brasileiro, mais especificamente ao século XVI, com a introdução do gado bovino na região Nordeste pelos portugueses. Os lusitanos, ao se estabelecerem, trouxeram consigo hábitos alimentares e técnicas de fabricação de queijo, especialmente influenciadas pelo queijo da Serra da Estrela, de Portugal. Inicialmente, a produção era uma solução prática para conservar o excedente de leite nas fazendas de criação de gado, utilizando coalho natural extraído do estômago de animais como o mocó (*Kerodon rupestris*), um roedor típico do sertão nordestino, o que deu origem ao nome "queijo coalho".

Sua produção está profundamente enraizada em técnicas artesanais transmitidas por gerações, utilizando leite cru ou pasteurizado, coalho animal ou microbiano, e sal como

ingredientes básicos (Cavalcante, 2017). A fabricação em estabelecimentos registrados deve seguir os requisitos técnicos e higiênico-sanitários estabelecidos pelo Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que regulamenta a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal em todo território nacional (Brasil, 2017). Nesse contexto, os selos de Indicação Geográfica (IG) surgem como instrumentos fundamentais para valorização e proteção desse patrimônio cultural, pois atestam a qualidade e origem do produto, diferenciando-o no mercado e agregando valor à produção regional (Village, 2024). A fabricação do queijo coalho segue um processo relativamente simples, porém com variações regionais que conferem características sensoriais distintas, como textura firme, sabor levemente ácido e salgado, além de uma capacidade única de derreter sem perder a forma quando aquecido (Bondarczuk, 2020). Além disso, é classificado como um queijo semiduro e de média a alta umidade, sendo sua conservação limitada devido à atividade de água elevada (aw).

Do ponto de vista microbiológico, o queijo coalho artesanal apresenta desafios significativos devido ao uso frequente de leite não pasteurizado e deficiências nas boas práticas de fabricação durante a produção. Estudos indicam que a contaminação por microrganismos patogênicos, como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella spp.*, é uma preocupação constante, especialmente em queijos produzidos sob condições inadequadas de processamento e estocagem (Almeida *et al.*, 2022). No entanto, essa mesma microbiota nativa pode contribuir para o desenvolvimento de características sensoriais únicas, valorizadas pelos consumidores locais (Soares *et al.*, 2020).

Apesar dos riscos microbiológicos, o queijo coalho mantém grande aceitação no mercado, não apenas pelo sabor, mas também por seu papel na economia regional. Muitas pequenas propriedades rurais dependem da produção e comercialização desse queijo como fonte de renda, reforçando sua importância socioeconômica (Cavalcante, 2017). Além disso, pesquisas recentes têm investigado métodos para melhorar sua qualidade e segurança, incluindo a adição de conservantes naturais, como ervas aromáticas e óleos essenciais, que podem inibir o crescimento microbiano sem alterar significativamente suas propriedades tradicionais (Almeida *et al.*, 2022).

Do ponto de vista sensorial, o queijo coalho apresenta uma diversidade de atributos que variam conforme a região de produção. Estudos utilizando metodologias como Preferred Attribute Elicitation (PAE) demonstram que os consumidores nordestinos valorizam características como firmeza, cor branca ou amarelada, sabor levemente salgado e a capacidade de "esticar" quando aquecido (Soares *et al.*, 2020). Essas preferências refletem

não apenas aspectos técnicos, mas também uma identidade cultural associada ao produto, tornando-o um alimento com forte apelo afetivo e regional.

O queijo coalho é um produto de grande relevância para o Nordeste brasileiro, tanto do ponto de vista cultural quanto econômico. Apesar dos desafios relacionados à segurança microbiológica, sua produção artesanal continua sendo valorizada, e pesquisas recentes buscam equilibrar a manutenção das características tradicionais com a adoção de boas práticas de fabricação e inovações tecnológicas que garantam maior qualidade e vida útil ao produto.

### **3.2 Bioquímica da maturação**

A maturação do queijo é um processo bioquímico complexo e fundamental para o desenvolvimento das características sensoriais que distinguem as diversas variedades de queijos. Trata-se de uma etapa que ocorre após a fabricação, envolvendo uma série de transformações químicas, bioquímicas e microbiológicas que modificam a textura, o sabor, o aroma e a aparência do produto final. De acordo com a Cartilha de Maturação de Queijos da Epamig (2025), o processo de maturação pode variar de três semanas a dois anos, dependendo do tipo de queijo e de seu teor de umidade.

Durante a maturação, ocorrem reações de hidrólise que dependem da disponibilidade de água. Quanto maior o teor de umidade, mais rápidas são as reações. No entanto, a relação sal/umidade é crucial, uma vez que o sal se liga à água, reduzindo sua atividade e, conseqüentemente, a velocidade das reações enzimáticas e o desenvolvimento microbiano. Queijos como o Minas Frescal, com alta umidade e baixo teor de sal, maturam rapidamente, enquanto queijos como o Parmesão, com baixa umidade e alto teor de sal, apresentam maturação mais lenta (Epamig, 2025).

As principais transformações bioquímicas durante a maturação incluem a proteólise, a lipólise e a glicólise. A proteólise, hidrólise enzimática das proteínas, é um dos eventos mais importantes. Inicialmente, a caseína, principal proteína do leite, é quebrada por enzimas proteolíticas, como a quimosina (presente no coalho) e enzimas de microrganismos, em peptídeos grandes. Estes, por sua vez, são degradados em peptídeos menores e aminoácidos livres por peptidases. Esse processo não apenas altera a textura, tornando o queijo mais macio, como também contribui para o sabor, uma vez que aminoácidos e peptídeos podem ter sabores característicos, como o amargo, ou servir como precursores de compostos aromáticos (Epamig, 2025; Fox *et al.*, 2017).

A lipólise, quebra de triglicerídeos por ação de lipases, gera ácidos graxos livres, que influenciam diretamente o sabor e o aroma do queijo. Esses ácidos podem ainda ser convertidos em outros compostos voláteis, como cetonas, álcoois e ésteres, que contribuem para a complexidade aromática. Diferentemente da proteólise, a lipólise não altera a textura do queijo, atuando principalmente nas características sensoriais (Lima, 2021).

Com relação à glicólise, a lactose é rapidamente convertida em ácido láctico pelas bactérias lácticas pela fermentação durante as primeiras etapas da maturação, onde uma molécula de lactose é convertida em quatro moléculas de ácido láctico (Silva; Marques, 2022). A extensão dessa fermentação é significativamente influenciada pela relação sal/umidade da coalhada, uma vez que baixos níveis de sal estimulam a atividade bacteriana, enquanto concentrações superiores a 2,5% a inibem fortemente. O lactato também pode ser oxidado a acetato e dióxido de carbono, um processo que depende da disponibilidade de oxigênio e da presença de bactérias não provenientes do fermento (Baldini, 1998). O acetato resultante contribui para o perfil de sabor do queijo, mas em concentrações excessivas pode gerar sabores anômalos. Após o consumo completo da lactose, as propionibactérias metabolizam preferencialmente o L-lactato, produzindo propionato, acetato e CO<sub>2</sub>. Este último é responsável pelo desenvolvimento das olhaduras características (Baldini, 1998).

Além desses eventos primários, ocorrem eventos secundários, nos quais aminoácidos e ácidos graxos são metabolizados formando compostos voláteis, como aldeídos, cetonas e enxofre, que definem o perfil aromático de cada queijo. A maturação é influenciada por fatores como temperatura, umidade relativa, aeração e formato do queijo. Temperatura entre 8 °C e 12 °C são comuns, mas variam conforme o tipo de queijo. A umidade relativa controla a perda de água e o crescimento de microrganismos desejáveis, como os fungos em queijos mofados (Epamig, 2025).

Alterações indesejáveis podem ocorrer durante a maturação, como sabores amargos ou rancidez, além de defeitos físicos como olhaduras irregulares e trincas, geralmente relacionados à qualidade do leite ou a falhas no processo (Epamig, 2025).

### **3.2 Tomilho (*Thymus vulgaris*) como aditivo natural**

A busca por alternativas naturais aos conservantes sintéticos tem se intensificado nas últimas décadas, impulsionada pela crescente valorização de alimentos mais saudáveis, sustentáveis e alinhados ao conceito *clean label*. Neste contexto, entre as plantas condimentares com potencial para aplicação como aditivos naturais, o tomilho (*Thymus*

*vulgaris*) se destaca por suas propriedades funcionais, organolépticas e biológicas, conforme evidenciado em estudos recentes.

O tomilho é reconhecido não apenas como uma erva aromática, mas também como uma fonte de compostos bioativos com efeitos benéficos à saúde. De acordo com Izidoro *et al.* (2021), plantas condimentares como o tomilho apresentam propriedades funcionais significativas, incluindo atividade antioxidante, capacidade de inibição microbiana e potencial anti-inflamatória, além de contribuírem para as características sensoriais dos alimentos, como aroma e sabor. Essas características tornam o tomilho um candidato promissor para a substituição ou redução de aditivos artificiais, atendendo às expectativas dos consumidores por produtos mais naturais e menos processados.

Do ponto de vista bioquímico, os compostos antioxidantes do tomilho atuam como doadores de elétrons, neutralizando radicais livres e interrompendo as reações em cadeia da peroxidação lipídica. Essa capacidade é especialmente relevante em produtos perecíveis de alta umidade, como queijos e carnes, em que o controle da rancidez oxidativa é essencial para a manutenção da qualidade sensorial e nutricional (Silva *et al.*, 2021). Paralelamente, o timol e o carvacrol exercem ação antimicrobiana ao desestabilizar a membrana celular bacteriana, aumentando sua permeabilidade e promovendo o extravasamento de constituintes intracelulares, o que leva à lise celular, mecanismo particularmente eficaz contra bactérias Gram-positivas (Hyldgaard *et al.*, 2012).

Complementando essas evidências, Galovičová *et al.* (2021) investigaram o óleo essencial de tomilho e confirmaram sua eficácia como agente antimicrobiano e antifúngico, além de seu potencial como antioxidante natural. Os autores ressaltam que a utilização do óleo essencial de tomilho em baixas concentrações já é suficiente para exercer efeitos significativos, o que o torna uma alternativa viável do ponto de vista tecnológico e econômico. Além disso, os estudos apontam para a segurança do uso moderado do tomilho em alimentos, reforçando sua viabilidade como aditivo natural.

Verificou-se que o tomilho apresenta propriedades que o qualificam como um composto bioativo multifuncional, capaz de atuar como conservante, antioxidante e realçador de sabor, ao mesmo tempo em que oferece benefícios à saúde. A incorporação desse condimento em formulações alimentícias pode contribuir para o desenvolvimento de produtos mais saudáveis e alinhados com as tendências atuais do mercado, que valorizam a naturalidade e a funcionalidade dos ingredientes.

Considerando essas propriedades, o tomilho tem se mostrado particularmente promissor na formulação de queijos artesanais, como o queijo coalho, nos quais o controle

microbiológico e a preservação das características sensoriais tradicionais representam desafios tecnológicos importantes.

### **3.3 Benefícios do tomilho adicionado ao queijo**

Estudos como o de Carvalho *et al.* (2015) evidenciam o potencial inibitório do óleo essencial de tomilho frente a importantes bactérias patogênicas e ácido láctico presentes em queijos. A pesquisa demonstrou que os principais componentes do óleo essencial, timol e carvacrol, apresentam atividade antimicrobiana significativa contra microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*, que frequentemente contaminam produtos lácteos. Esses compostos fenólicos atuam desestabilizando a membrana celular bacteriana, um mecanismo detalhado por Kowalczyk *et al.* (2020), que explica como a integração do timol na camada lipídica aumenta a curvatura da superfície, diminuindo a elasticidade e aumentando a fluidez da membrana, resultando em maior permeabilidade a íons e perda de componentes intracelulares. Além disso, o timol interage com proteínas de membrana através de mecanismos inespecíficos, alterando sua conformação e atividade, o que leva à morte microbiana. No contexto específico do queijo coalho, essa ação se mostra particularmente relevante, o que pode ser visto na tabela 1, considerando as condições de produção muitas vezes artesanais e o armazenamento frequentemente realizado em temperaturas não ideais.

Fonseca *et al.* (2022) complementam esses achados ao discutirem os fatores relacionados à maturação de queijos artesanais que apresentam efeitos antimicrobianos. Os autores destacam que a adição de plantas condimentares como o tomilho pode potencializar os mecanismos naturais de defesa do queijo contra microrganismos patogênicos. No caso específico do queijo coalho, que muitas vezes não passa por processo de maturação prolongado, a incorporação de tomilho assume papel ainda mais importante como barreira microbiológica. O estudo ressalta que a atividade antimicrobiana do tomilho se mantém eficaz ao longo do tempo de prateleira do produto, diferentemente de alguns compostos sintéticos que podem perder eficácia ou gerar resistência microbiana.

Além da ação contra patógenos, o tomilho também exerce efeitos seletivos sobre a microbiota benéfica do queijo coalho. Carvalho *et al.* (2015) observaram que, em concentrações adequadas, o óleo essencial de tomilho não inibe significativamente as bactérias ácido láctico essenciais para as características sensoriais e tecnológicas do produto. Essa seletividade é fundamental para manter o equilíbrio microbiológico desejável no queijo

coalho, preservando suas propriedades fermentativas enquanto controla os microrganismos indesejáveis.

A eficácia antimicrobiana do tomilho no queijo coalho pode variar conforme o método de aplicação e a forma de apresentação da erva (folhas secas, óleo essencial ou extratos). Estudos indicam que a incorporação do óleo essencial apresenta maior eficiência devido à maior concentração de compostos ativos, porém requer cuidados com o impacto sensorial. Por outro lado, o uso das folhas inteiras ou fragmentadas, embora possa ter ação antimicrobiana ligeiramente menor, contribui para características sensoriais desejáveis e aceitação pelo consumidor.

**Tabela 1** - Estudos sobre os efeitos da inclusão do OE de tomilho em diferentes concentrações.

<b>Autores</b>	<b>Tipo de queijo</b>	<b>Concentração do óleo</b>	<b>Efeitos observados</b>
Govaris <i>et al.</i> (2011)	Queijo Feta	0,1 ml/100g	<i>E. coli</i> O157:H7: Sobreviveu até 22 dias; Atividade ligeiramente superior contra <i>L. monocytogenes</i>
Zantar, Said <i>et al.</i> (2014)	Queijo caprino fresco	0,05% e 0,1%	Não houve diferença significativa entre o tratamento e o controle para características físico-químicas, mas com o OE, os coliformes foram completamente inibidos.
Carvalho (2015)	Queijo coalho	1,25 µL/g	Inibiu efetivamente <i>S. aureus</i> e <i>L. monocytogenes</i> por 10 dias e manteve a aceitação sensorial do queijo

### 3.4 Impacto nas características físico-químicas do queijo coalho

A maturação do queijo é um processo bioquímico complexo, influenciado por uma rede de fatores interligados que vão desde a composição microbiológica inicial até as condições ambientais de armazenamento. O pH e a acidez desempenham um papel regulador central, uma vez que afetam diretamente a atividade enzimática e o desenvolvimento microbiano. Como destacado pela cartilha de maturação, “o pH do queijo está relacionado com o pH ótimo de atuação das enzimas e de desenvolvimento de microrganismos durante a

maturação” (Epamig, 2025, p. 18). A acidificação inicial, resultante da fermentação da lactose em ácido láctico por bactérias lácticas, não só contribui para a segurança microbiológica, mas também influencia reações subsequentes, como a proteólise. Nesse contexto, Rodrigues (2021) em seus estudos sobre a utilização de óleos essenciais em queijos com alta umidade, destaca que o óleo de *Thymus vulgaris* provoca modificações no pH e na acidez do queijo coalho durante o período de armazenamento. O autor observou que a ação dos compostos fenólicos principais (timol e carvacrol) tende a estabilizar o pH em valores ligeiramente mais baixos quando comparado ao queijo controle, criando um ambiente menos propício para o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes, ou seja, contribui para maior estabilidade microbiológica do produto. Essa diminuição do pH torna o ambiente menos propício para o desenvolvimento de enterobactérias, como a *Escherichia coli* (Proença, 2020).

A oxidação lipídica é outro processo crítico, particularmente em queijos com teor considerável de gordura, como o queijo coalho. A lipólise, definida como a degradação dos triacilglicerídeos que compõem a gordura do leite, por ação de enzimas lipolíticas (Epamig, 2025, p. 15), gera ácidos graxos livres que, se não controlados, podem levar à rancidez. Vasconcelos (2023) demonstrou que o óleo de tomilho atua como um antioxidante eficaz, reduzindo a formação de peróxidos e mantendo a qualidade lipídica durante o armazenamento. Esse efeito é tecnologicamente relevante, pois a oxidação não só compromete o sabor, mas também a aceitação do produto.

A textura e a firmeza são determinadas principalmente pela proteólise, a hidrólise enzimática da proteína em peptídeos e, posteriormente, em aminoácidos (Epamig, 2025, p. 14). Conforme a estrutura proteica é quebrada, o queijo torna-se mais macio, um fenômeno visível em variedades como o Camembert. Siqueira (2021) observou que compostos fenólicos do tomilho em matrizes alimentícias como o queijo coalho podem influenciar a firmeza e a capacidade de dessoragem do produto. De modo que interagem com as proteínas do leite, moderando a firmeza sem prejudicar a formação da coalhada. Contudo, em concentrações elevadas, observou-se um discreto aumento na firmeza do queijo, possivelmente relacionado à interação dos compostos fenólicos com as proteínas do leite. Esta modificação pode ser benéfica para o queijo coalho, que tradicionalmente deve apresentar certa firmeza para manter sua integridade durante o corte e preparo culinário.

A atividade de água ( $a_w$ ) é um parâmetro fundamental para a velocidade das reações de maturação e o controle microbiológico. A cartilha ressalta que “quanto mais úmido o queijo, mais facilitadas são as reações” (Epamig, 2025, p. 18), mas o sal, ao se ligar à água,

reduz sua disponibilidade. Vasconcelos (2023) verificou que o uso de *Thymus vulgaris* não altera significativamente a aw, preservando assim as características de textura e evitando alterações indesejáveis, como o ressecamento excessivo ou o amolecimento acelerado.

A cor e a aparência evoluem durante a maturação, seja pelo crescimento de microrganismos superficiais, seja pela formação de peptídeos que alteram a reflexão da luz. Rodrigues (2021) notou que o óleo de tomilho, em concentrações moderadas, não modifica significativamente a coloração típica do queijo coalho, assegurando sua aceitação pelos consumidores, que possuem expectativas sensoriais bem definidas, enquanto o emprego de folhas secas pode conferir leves tons esverdeados, dependendo da concentração utilizada

O rendimento industrial está intimamente ligado à composição do queijo e à eficiência do processo. Fatores como teor de umidade, perdas por evaporação e eficácia da coagulação influenciam diretamente o rendimento. Vasconcelos (2023) constatou que o composto natural, em dosagens adequadas, não reduz o rendimento, diferentemente de alguns aditivos sintéticos que podem interferir na coagulação ou na dessoragem. Em síntese, a maturação do queijo é um sistema dinâmico no qual parâmetros físico-químicos como pH, atividade de água, extensão da proteólise e lipólise, interagem para definir a qualidade microbiológica, tecnológica e sensorial do produto final. O uso de agentes naturais, como o óleo essencial de *Thymus vulgaris*, mostra-se uma estratégia promissora para modular esses parâmetros, atuando simultaneamente como acidificante, antioxidante e estabilizador de textura, sem comprometer as características tradicionais do queijo.

#### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi conduzido no Laboratório de Qualidade do Leite (LabLeite), vinculado ao Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), no período de setembro a outubro de 2025. O óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) foi adquirido de uma empresa especializada, com composição química apresentada na Tabela 2. As concentrações empregadas (0, 15, 30, 45 e 60 µL) foram previamente determinadas com base em resultados obtidos em estudo anterior, de modo a avaliar os efeitos crescentes do óleo essencial sobre as características físico-químicas, microbiológicas e sensoriais do queijo coalho.

**Tabela 2** - Composição química do óleo de tomilho (*Thymus vulgaris*).

Pico	Tempo de retenção	Composto	Área%
41	35.608	Timol	54.88%
13	17.963	para-Cimeno	17.30%
18	19.809	gama-Terpineno	9.80%
23	22.536	Linalol	3.87%
42	36.159	Carvacrol	3.33%
9	15.393	Mirceno	1.29%
46	43.858	beta-Cariofileno	1.17%
12	17.092	alfa-Terpineno	1.12%
31	27.400	Borneol	1.13%
6	13.213	Canfeno	0.74%
32	27.980	Terpinen-4-ol	0.74%
4	12.323	alfa-Pineno	0.66%
3	11.923	alfa-Tujeno	0.89%
		Outros (48 compostos)	4.69%
		<b>TOTAL</b>	<b>100.00%</b>

Fonte: Aromatic Plant Research Center, 2023.

#### 4.1 Recepção e preparo do leite

O leite utilizado na fabricação dos queijos foi obtido de um produtor local. Após a ordenha da manhã, o leite foi transportado em recipientes de aço inoxidável sob temperatura de refrigeração (<10°C) até o Laboratório de Qualidade do Leite (LabLeite), do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Na chegada ao laboratório, o leite passou por inspeção visual e avaliação dos parâmetros básicos de qualidade, como temperatura, odor e ausência de sujidades visíveis. Em seguida, foi submetido à filtração em peneira esterilizada, com o objetivo de remover possíveis impurezas físicas oriundas da ordenha e do transporte.

Os recipientes utilizados no armazenamento foram previamente lavados, higienizados com solução sanitizante (200 ppm de cloro ativo) e enxaguados com água potável antes do uso. O leite filtrado foi então mantido sob refrigeração a  $4 \pm 1$  °C até o momento da

fabricação dos queijos, de modo a preservar suas características físico-químicas e microbiológicas.

#### **4.2 Pasteurização lenta do leite e produção**

O processo de produção iniciou-se com a pasteurização lenta (ou pasteurização tipo VAT) do leite, um método térmico crucial para garantir a segurança microbiológica do produto final sem comprometer excessivamente suas características físico-químicas naturais. O leite foi submetido a um tratamento térmico controlado em um pasteurizador, onde foi mantido a uma temperatura na faixa de 62 a 65 °C por um período de 30 minutos. Durante este intervalo, promoveu-se uma agitação lenta e constante do produto, assegurando uma distribuição homogênea do calor em toda a massa líquida e prevenindo a formação de uma camada de creme superficial e a ocorrência de superaquecimento localizado. Imediatamente após a pasteurização, o leite foi submetido a um rápido resfriamento, utilizando-se um banho de gelo, até atingir a temperatura ideal de inoculação de culturas e adição de coagulante, estabelecida em 35 °C. Este resfriamento abrupto é fundamental para interromper o efeito térmico, estabilizar o produto e evitar a proliferação de microrganismos termodúricos que possam ter sobrevivido ao processo.

Todo o processo de fabricação foi conduzido em condições rigorosas de higiene para minimizar qualquer risco de contaminação cruzada e garantir a qualidade e a padronização dos queijos produzidos. Para tal, foram utilizados equipamentos e utensílios de aço inoxidável, dedicados exclusivamente à produção láctea. A higienização prévia desses materiais foi realizada meticulosamente com detergente neutro, esponja de uso exclusivo e enxágue abundante com água purificada. Adicionalmente, os operadores envolvidos na produção utilizaram vestimentas adequadas de proteção, incluindo batas limpas, toucas descartáveis e máscaras, seguindo as boas práticas de fabricação. Protocolos adicionais restringiram o uso de perfumes, desodorantes com fragrâncias intensas e cremes, prevenindo a transferência de odores ao produto.

Após o resfriamento à temperatura de 35°C, procedeu-se à correção das características físico-químicas do leite pasteurizado. Foi adicionado cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) na proporção de 3 mL para cada 10 litros de leite, seguindo a recomendação do fabricante, compensando a redução do cálcio iônico causada pelo aquecimento e garantindo a formação de um coágulo estável, com adequada retenção de água e firmeza, essenciais para o rendimento final do queijo (Nassu *et al.*, 2006).

Em sequência, foi adicionado o coagulante microbial, na dosagem de 8 mL para cada 10 litros de leite, também seguindo as especificações do fornecedor. A introdução desta enzima proteolítica é etapa fundamental para a hidrólise específica da caseína kappa, desencadeando a desestabilização do sistema coloidal do leite e a subsequente agregação das micelas para formar o coágulo, que é a base estrutural do queijo (De Paula; Carvalho; Furtado, 2009). A dosagem e o tempo de ação do coagulante são parâmetros determinantes para a textura final e para a eficiência da dessoragem (perda de soro).

Posteriormente à quebra do coágulo e à drenagem parcial do soro, o sal (cloreto de sódio - NaCl) foi adicionado uniformemente em todos os tratamentos experimentais, na proporção fixa de 40 g para cada 10 kg de leite. Imediatamente após a salga, procedeu-se à aplicação dos tratamentos, que consistiram na adição de diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*): T0 (controle) = 0 µL; T1 = 15 µL; T2 = 30 µL; T3 = 45 µL; e T4 = 60 µL de óleo essencial por quilo de massa. Foram produzidos quatro queijos por tratamento, totalizando vinte queijos.

Finalizadas as etapas de salga e adição do óleo, as massas coalhadas foram moldadas e submetidas à prensagem mecânica em prensas manuais. A prensagem foi conduzida de forma gradual e coletiva por um período total de 5 horas, com o objetivo de promover a consolidação final do queijo, a expulsão do soro residual (dessoragem) e a formação da superfície fechada. Os queijos, então, foram desmoldados, embalados individualmente em material apropriado e transferidos para câmara fria, onde foram armazenados sob refrigeração controlada, em temperatura variando entre 7 e 10 °C, para a fase de maturação, que se estendeu por um período total de 30 dias. Durante este estágio, as alterações físico-químicas e microbiológicas, influenciadas pelos tratamentos, foram monitoradas nos tempos 0, 15 e 30 dias.

### **4.3 Análises físico-químicas**

As análises físico-químicas do queijo coalho foram conduzidas em duplicatas para cada tratamento, que incluíram as diferentes concentrações do óleo essencial de tomilho, além do grupo controle, em diferentes tempos de maturação (0, 15 e 30 dias).

#### **4.3.1 Prova do alizarol**

O ensaio de alizarol foi conduzido com três amostras de leite cru, utilizando-se como materiais solução de alizarol (preparada com álcool etílico e alizarina), tubos de ensaio,

pipetas volumétricas, termômetro e cronômetro. Metodicamente, distribuíram-se alíquotas de 2 mL de de leite cru em tubos de ensaio separados, adicionando-se igual volume (2 mL) da solução de alizarol a cada um. Após homogeneização por agitação manual suave, avaliou-se a ocorrência de modificações na coloração e eventual precipitação ou formação de coágulos.

#### **4.3.2 Umidade**

O teor de umidade foi determinado pelo método gravimétrico de secagem em estufa. 5 g da amostra foi transferida para um cadinho tarado utilizando pipeta (leite) ou espátula (queijo) e submetida à secagem em estufa a  $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  até a obtenção de peso constante, conforme metodologia padrão AOAC 925.23.

#### **4.3.3 Densidade relativa**

A determinação da densidade relativa a  $15^{\circ}\text{C}$  foi realizada utilizando-se um termolactodensímetro, equipamento que mensura simultaneamente a densidade do leite e a temperatura durante a análise.

#### **4.3.4 Cinzas**

Para a determinação do teor de cinzas, cadinhos de porcelana foram previamente aquecidos em mufla a  $550^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos. Após este tratamento térmico, os cadinhos foram transferidos para um dessecador para resfriamento até atingirem temperatura ambiente e subsequentemente tiveram sua massa determinada em balança analítica. Em seguida, adicionou-se 5 g de amostra em cada cadinho e submeteu-se novamente à mufla por 3 horas para completa incineração do material. Após este período, os cadinhos foram novamente resfriados em dessecador e pesados após atingirem a temperatura ambiente.

#### **4.3.5 Proteína total**

A determinação do teor de proteína total foi realizada pelo método de Micro-Kjeldahl. Para a análise, utilizaram-se 2 g de leite e 0,2 g de queijo, as quais foram submetidas às etapas de digestão, destilação e titulação em tubos específicos.

#### **4.3.6 Gordura**

O teor de gordura foi determinado pelo método butirométrico. Para a análise do queijo, pesou-se 3 g de amostra em um butirômetro, adicionando-se sequencialmente 5 mL de água destilada aquecida, 10 mL da solução de ácido sulfúrico e 1 mL de álcool isoamílico. Para o leite, empregou-se a metodologia de Gerber, na qual 11 mL de amostra foram medidos e processados em um lactobutirômetro. Ambos os procedimentos foram realizados conforme descrito pelo método IAL 465 IV e por Castanheira (2012).

#### **4.3.7 Acidez titulável**

A quantificação da acidez titulável foi efetuada a partir de uma alíquota de 10 g do queijo, a qual foi triturada e homogeneizada com água destilada, sendo o volume final ajustado para 100 mL. A titulação de cada amostra foi conduzida com solução de hidróxido de sódio 0,111 N (solução Dornic), empregando fenolftaleína a 1% (m/v) como indicador. O ponto final da reação foi identificado pelo surgimento de uma coloração rosa que se manteve estável. O resultado foi expresso em graus Dornic ( $^{\circ}\text{D}$ ), considerando que cada 0,1 mL do titulante consumido equivale a  $1^{\circ}\text{D}$ , o que corresponde a 0,01% (m/v) de ácido láctico, de acordo com a metodologia oficial AOAC 281 947.05 (2016).

#### **4.4 Análises microbiológicas**

Foram realizados diferentes testes para as análises microbiológicas e alguns testes confirmativos para garantir a confiabilidade dos resultados, que foram realizados em cada período de maturação (0, 15 e 30 dias) e para cada tratamento, seguindo a IN 161/2022. Foram avaliadas a presença de *Escherichia coli* (EC), *Staphylococcus aureus* (SC), *Salmonella spp.* e *Listeria monocytogenes* (LS), bactérias que representam riscos à saúde, causando quadros de intoxicação alimentar. Adicionalmente, as amostras que apresentaram positividade foram submetidas a testes confirmatórios, como a coloração de Gram (seguida de observação microscópica), a reação da catalase e a avaliação no meio S.I.M.

##### **4.4.1 *Staphylococcus aureus* (XSA)**

Para a detecção de *Staphylococcus aureus*, procedeu-se com a homogeneização de 1 mL da amostra de queijo em solução de água peptonada. O inóculo foi subsequentemente adicionado em placas de cultura do sistema Compact Dry. A incubação foi conduzida a  $41 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  por um período de  $22 \pm 2$  horas, mantendo as placas em posição invertida durante todo

o processo em estufa bacteriológica. Além disso, foi realizado o teste confirmativo da coloração de Gram, identificando coloração azul (positivo) ou roxa (negativo). Após o término do período de incubação, realizou-se a leitura das placas, verificando-se a presença ou ausência de unidades formadoras de colônias (UFC) que exibiam coloração azul característica.

#### **4.4.2 *Salmonella spp.***

Para a detecção de *Salmonella spp.*, utilizou-se 1 mL da amostra de queijo, a qual foi homogeneizada em água peptonada estéril e submetida a etapa de pré-enriquecimento a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por  $22 \pm 2$  horas. Em seguida, a amostra foi inoculada em placas de cultura do sistema Compact Dry e incubada a  $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$  por  $22 \pm 2$  horas, mantendo-se as placas em posição invertida durante o período de incubação na estufa bacteriológica. Ao final do ciclo de incubação, as placas foram submetidas à análise, constatando-se a existência ou não de unidades formadoras de colônias com a tonalidade amarela típica.

#### **4.4.3 *Escherichia coli* (EC)**

A quantificação de *Escherichia coli* foi efetuada a partir de uma alíquota de 1 mL da amostra de queijo, previamente homogeneizada em solução de água peptonada. O inóculo foi transferido para placas de cultura Compact Dry específicas para essa enterobactéria, as quais foram incubadas a  $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$  por  $24 \pm 2$  horas, mantidas em posição invertida na estufa bacteriológica durante todo o período de incubação para garantir desenvolvimento colonial adequado. Após esse período, foi avaliada a presença ou ausência de unidades formadoras de colônias na cor azul.

#### **4.4.4 *Listeria monocytogenes***

Para a detecção de *Listeria monocytogenes*, procedeu-se com a homogeneização de 1 mL da amostra de queijo em água peptonada. Após um período de repouso de uma hora, o inóculo foi semeado em placas de cultura do sistema Compact Dry específicas para este patógeno. A incubação foi conduzida a  $41 \pm 0,5^\circ\text{C}$  por um intervalo de 24 a 48 horas, mantendo-se as placas em posição invertida durante todo o processo de desenvolvimento microbiano.

Diante da detecção da bactéria-alvo mediante contagem de colônias efetuada no equipamento CP 600 Plus Phoenix, procedeu-se à confirmação da identidade microbiana através de um conjunto de provas bioquímicas. Esta triagem confirmatória incluiu os testes de coloração de Gram, reação da catalase e avaliação no meio S.I.M. para verificação de produção de sulfeto, formação de indol e capacidade de motilidade.

#### **4.5 Análise sensorial**

O painel sensorial foi composto por 11 provadores adultos (ambos os sexos), com idades entre 20 e 49 anos, selecionados mediante critérios de inclusão: maioridade ( $\geq 18$  anos), ausência de intolerância à lactose e alergia a proteínas do leite.

##### **4.5.1 Método de análise sensorial**

Utilizou-se a técnica de Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), seguindo metodologia simplificada conforme proposto por Faria e Yatsuyanagi (2002). Cada avaliador recebeu cinco amostras de queijo coalho referentes aos diferentes tratamentos em estudo.

##### **4.5.2 Preparação e apresentação das amostras**

As amostras foram servidas na forma de cubos ( $\pm 30$  g), mantidas sob refrigeração a  $7^{\circ}\text{C}$  e acondicionadas em recipientes plásticos fechados. Cada amostra foi codificada com números de três dígitos aleatórios, sendo acompanhadas de bolacha água e sal e água mineral para neutralização do palato entre as avaliações.

##### **4.5.3 Escalas de avaliação**

Foi empregada uma escala hedônica não estruturada de 10 cm, ancorada nas extremidades com descritores de intensidade mínima e máxima para os seguintes atributos: odor, aparência, sabor, textura, aparência geral, maciez, umidade e olhaduras. Os valores medidos foram posteriormente convertidos para uma escala numérica de 0 a 10 pontos.

Foi aplicado um teste de ordenação em que os provadores classificaram as amostras do 1º ao 5º lugar, registrando-se os critérios utilizados para a hierarquização. E foi atribuída também uma escala para a intenção de compra, sendo mensurada por meio de escala estruturada de 5 pontos: 1 - jamais compraria, 2 - talvez não compraria, 3 - possivelmente não compraria, 4 - possivelmente compraria, 5 - compraria.

#### **4.6 Análise estatística**

O experimento foi configurado em delineamento inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e três tempos de maturação. Os dados obtidos foram submetidos à análise de contraste polinomiais, por meio do procedimento Mixed do software Statistical Analysis System – SAS (SAS Institute, 2009).

As respostas sensoriais foram tratadas como dados ordinais provenientes de um delineamento com medidas repetidas, no qual cada avaliador julgou todos os tratamentos (0, 15, 30, 45 e 60 µL de óleo essencial de tomilho) nos tempos 0 e 15 dias de maturação. Assim, para cada tempo, utilizou-se o teste não paramétrico de Friedman, considerando o avaliador como bloco e o tratamento como fator fixo, para verificar a existência de diferenças globais entre os níveis da concentração.

Quando identificado efeito significativo pelo teste de Friedman ( $p < 0,05$ ), procedeu-se à análise de tendência dose–resposta utilizando o teste de Page, apropriado para fatores ordenados e capaz de detectar tendências monotônicas crescentes ou decrescentes entre níveis sucessivos de tratamento. Esse teste foi aplicado somente aos atributos que apresentaram resultado significativo no Friedman.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição físico-química e microbiológica do leite pré e pós pasteurização comparada com a legislação apresentada na Tabela 3, compara os valores da composição físico-química exigidos pela Instrução Normativa 76/2018 e compara os parâmetros microbiológicos dos leites cru e pasteurizado seguindo a Instrução Normativa 161/2022.

**Tabela 3.** Composição físico-química e microbiológica do leite pré e pós pasteurização.

Perfil físico-químico	Composição	Legislação <sup>1</sup>
Sólidos totais, %	13,4	Mínimo 11,4
Gordura, %	4,15	Mínimo 3,0
Proteína, %	3,05	Mínimo 2,9
Cinzas, %	0,72	-
Acidez (g de ác. láctico por 100mL)	0,14	Entre 0,14 - 0,18
Densidade, g/mL	1,030	Entre 1,028 - 1,034
Alizarol	Coloração Vermelha Tijolo	Leite estável

Perfil microbiológico - Leite cru (UFC/g)

<i>Staphylococcus aureus</i>	<1,0*10	-
<i>Escherichia coli</i>	5,7*10 <sup>1</sup>	-
<i>Listeria spp.</i>	1,43*10 <sup>2</sup>	-
<i>Salmonella spp.</i>	0	-

Perfil microbiológico - Leite Pasteurizado (UFC/g)

<i>Staphylococcus aureus</i>	<1,0*10	Máximo 10
<i>Escherichia coli</i>	<1,0*10	Máximo 10
<i>Listeria spp.</i>	<1,0*10	Máximo 10
<i>Salmonella spp.</i>	0	0

<sup>1</sup>Parâmetros físico-químicos da Instrução Normativa 76/2018 e parâmetros de qualidade microbiológica de acordo com a Instrução Normativa 161/2022.

O perfil físico-químico do leite avaliado demonstrou características nutricionais e de estabilidade satisfatórias. A concentração de sólidos totais estava elevada, conferindo um bom valor nutricional ao produto. De maneira similar, a porcentagem de gordura e o teor de proteína também superaram os valores mínimos exigidos pela legislação vigente, reforçando a qualidade nutricional.

Em relação à estabilidade, a acidez titulável do leite se enquadrou dentro do intervalo estabelecido pela legislação, o que indica uma boa preservação e estabilidade da matriz, sugerindo que não ocorreu fermentação indesejada e que o leite foi mantido em temperatura apropriada antes do processo de pasteurização. Além disso, o valor de densidade permaneceu dentro do intervalo regulamentar, um parâmetro crucial para descartar possíveis adulterações, como a adição de água (Abrantes *et al.*, 2014). A Prova do Alizarol corroborou a estabilidade do leite ao apresentar coloração vermelho tijolo e ausência de grumos.

O perfil microbiológico do leite cru revelou valores significativos para *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*, um achado frequente em leites não pasteurizados. Contudo, não foram detectados valores significativos de *Staphylococcus aureus* e não houve presença de *Salmonella spp.*, indicando um nível aceitável de higiene durante o processo de ordenha (Tischer, 2018). Após o tratamento térmico, o leite pasteurizado demonstrou ausência ou níveis não significativos de todos os microrganismos analisados, confirmando a eficiência do processo de pasteurização.

Foram considerados os desdobramentos das interações entre tempo de maturação e tratamento sempre que apresentaram significância ( $P < 0,05$ ) sobre as variáveis físico-químicas avaliadas (Tabela 4). Dessa forma, toda a discussão apresentada a seguir foi

construída levando em conta esses efeitos interativos, uma vez que representam a resposta real do sistema às diferentes combinações de fatores estudados.

**Tabela 4.** Variáveis físico-químicas avaliadas em decorrência da inclusão de diferentes concentrações do óleo de *thymus vulgaris* sobre diferentes tempos de maturação.

	Tempo	Tratamentos (%)					EPM <sup>1</sup>	P-Valor			
		0	15	30	45	60		Linear	Quadrático	Tempo	Trat x tempo
pH	0	6,90	6,68	6,63	6,90	6,67	0,15	0,2921	<,0001	<,0001	<,0001
	15	6,39	5,90	5,97	6,09	6,02					
	30	6,20	5,67	6,09	5,99	6,59					
Acidez	0	0,057	0,067	0,052	0,052	0,070	0,03	0,0944	0,0019	<,0001	<,0001
	15	0,065	0,062	0,132	0,105	0,077					
	30	0,087	0,125	0,162	0,107	0,137					
Umidade	0	55,44	54,96	61,33	58,95	62,16	0,60	<,0001	0,0084	<,0001	<,0001
	15	54,55	52,45	56,37	55,28	58,09					
	30	52,30	49,96	52,46	53,08	54,82					
Cinzas	0	3,56	4,01	3,82	3,91	3,82	0,19	0,0082	0,0920	<,0001	0,0714
	15	3,36	3,27	3,56	3,44	3,47					
	30	3,36	3,29	3,58	3,54	3,65					
Gordura	0	20,37	22,37	18,12	18,12	18,37	0,72	<,0001	<,0001	<,0001	0,0235
	15	21,37	24,37	20,37	19,50	19,37					
	30	23,00	26,25	22,90	20,37	20,67					
Proteína	0	18,27	16,44	15,48	18,22	14,43	0,76	0,0219	<,0001	<,0001	<,0001
	15	19,59	17,71	19,07	19,61	20,41					
	30	19,89	18,47	18,95	20,83	18,69					
GES <sup>2</sup>	0	45,73	49,68	46,87	44,16	48,57	1,44	<,0001	<,0001	0,3113	0,0133
	15	47,04	51,27	46,69	43,62	46,24					
	30	48,21	52,45	48,14	43,43	45,77					

<sup>1</sup>Erro padrão da média; <sup>2</sup>Gordura no Extrato Seco.

Os resultados demonstram que o tempo de maturação e as concentrações do óleo essencial de tomilho influenciaram ( $P < 0,05$ ) a maioria das variáveis físico-químicas. A redução do pH, acompanhada do aumento da acidez, caracteriza o avanço das transformações

bioquímicas e fermentativas inerentes à maturação, conforme amplamente documentado por Lorenzo e Munekata (2016). Entretanto, o comportamento quadrático observado para essas variáveis em resposta ao tratamento indica que o efeito antimicrobiano do óleo essencial não aumenta proporcionalmente à sua concentração, fenômeno coerente com matrizes alimentares ricas em lipídios e proteínas, nas quais compostos hidrofóbicos têm sua biodisponibilidade modulada (Burt, 2004; Hyldgaard; Mygind; Meyer, 2012).

Concentrações elevadas de timol e carvacrol, conforme observado na Tabela 2, podem promover a formação de agregados hidrofóbicos, limitar a solubilidade desses compostos e reduzir sua difusão efetiva, ocasionando saturação dos sítios de interação e diminuindo a atividade antimicrobiana disponível. Esse comportamento não linear pode também decorrer do chamado *lipid sink effect*, no qual glóbulos de gordura sequestram compostos fenólicos, reduzindo sua fração ativa (Domínguez *et al.*, 2019). Adicionalmente, concentrações muito elevadas podem inibir parcialmente bactérias lácticas desejáveis, reduzindo a taxa de acidificação e contribuindo para respostas divergentes do esperado, conforme relatado em sistemas fermentativos submetidos a antimicrobianos naturais (Viuda-Martos *et al.*, 2008).

As modificações observadas nas variáveis umidade, proteína e gordura (Tabela 4) refletem os processos físico-químicos e estruturais que caracterizam a maturação. A redução progressiva de umidade resulta da contração da rede proteica, da reorganização das micelas de caseína e da diminuição da repulsão eletrostática, levando à redução de água livre e imobilizada e ao aumento da concentração de sólidos totais (Toldrá, 2017). A diminuição gradual da atividade de água acompanha esse processo, consolidando a matriz proteica em uma estrutura tridimensional mais compacta.

A interação significativa entre tempo e tratamento demonstra que a incorporação do óleo essencial não atua apenas sobre a microbiota, mas também sobre a arquitetura estrutural da matriz láctea. A natureza hidrofóbica de timol e carvacrol confere elevada afinidade por regiões lipídicas e hidrofóbicas das proteínas, permitindo sua inserção nas micelas de caseína e nas membranas interfaciais dos glóbulos de gordura. Essas interações podem induzir plasticização local, alterar a porosidade e modificar a mobilidade molecular interna, afetando diretamente a capacidade de retenção de água, a taxa de sinérese e a difusão de solutos bioativos (Pereira *et al.*, 2015).

A literatura demonstra que compostos fenólicos podem alterar a conformação tridimensional de proteínas lácteas e a organização das micelas de caseína, modulando a distribuição de cálcio micelar e, conseqüentemente, a rigidez da matriz e os mecanismos de aprisionamento de água, conforme evidenciado em estudos de formação de complexos

caseína-polifenol (Tosif *et al.*, 2021; Van De Langerijt *et al.*, 2023; Yildirim-Elikoglu; Erdem, 2018; Ma; Tribet; Guyot, 2019; Hamzalioglu *et al.*, 2023; Lu *et al.*, 2025).

A fração proteica apresenta intensificação de concentração com a progressão da maturação; entretanto, a presença do óleo essencial pode alterar a hidratação das caseínas e a exposição de grupos polares, modulando a interação água-proteína (Yildirim-Elikoglu; Erdem, 2018; Tosif *et al.*, 2021). Compostos fenólicos podem atuar como agentes estruturantes ou desestruturantes, dependendo da concentração aplicada, uma vez que apresentam elevada afinidade por domínios hidrofóbicos das proteínas lácteas e podem alterar sua conformação tridimensional, bem como a distribuição do cálcio micelar (Ma; Tribet; Guyot, 2019; Hamzalioglu *et al.*, 2023; Van De Langerijt *et al.*, 2023). Tais interações favorecem a formação de domínios segregados ou microcanais, modificando os coeficientes de difusão interna e influenciando diretamente a retenção de água. Assim, concentrações intermediárias podem promover maior reorganização microestrutural do que concentrações elevadas, comportamento compatível com os efeitos quadráticos observados.

Quanto à fração lipídica, além do aumento relativo decorrente da concentração dos sólidos, o óleo essencial pode alterar a estabilidade dos glóbulos de gordura, influenciando fenômenos como coalescência e floculação. A interação dos compostos fenólicos com a membrana interfacial pode modificar a estrutura dos fosfolipídios e das proteínas de membrana, alterando a organização interna e influenciando a textura e distribuição da gordura ao longo da maturação (Shahidi; Zhong, 2010).

Os teores de cinzas (Tabela 4), embora relativamente estáveis, refletem principalmente os efeitos de concentração por perda de água, apresentando pouca interferência direta dos compostos fenólicos, o que está em concordância com estudos que indicam baixa afinidade destes compostos com a fração mineral (Domínguez *et al.*, 2019). Já a Gordura no Extrato Seco, por sua natureza relativa, manteve estabilidade em função do tempo de maturação, mas demonstrou sensibilidade às concentrações de óleo essencial, possivelmente devido à reorganização dos glóbulos lipídicos e à interação dos fenóis com a matriz proteica, modulando a distribuição e retenção da gordura (Viuda-Martos *et al.*, 2008).

Em conjunto, os resultados evidenciam que o óleo essencial de tomilho atua como modulador multifatorial durante o processo de maturação, interagindo simultaneamente com proteínas, lipídios, água e microbiota. Essa interação em múltiplas escalas, molecular, microestrutural e físico-química, resulta em padrões de resposta não lineares, dependentes tanto do tempo quanto da concentração aplicada. Assim, o óleo essencial exerce papel não apenas antioxidante e antimicrobiano, mas também estruturante, influenciando a evolução

físico-química do queijo ao longo de sua maturação e indicando que sua aplicação tecnológica deve considerar cuidadosamente as interações complexas que emergem dessa matriz altamente heterogênea.

A análise microbiológica (Tabela 5, Figura 1) revelou comportamentos distintos entre os microrganismos avaliados ao longo da maturação. *Escherichia coli* foi a espécie que apresentou maior variação entre tratamentos e tempos, enquanto *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella spp.* permaneceram totalmente controlados durante todo o experimento.

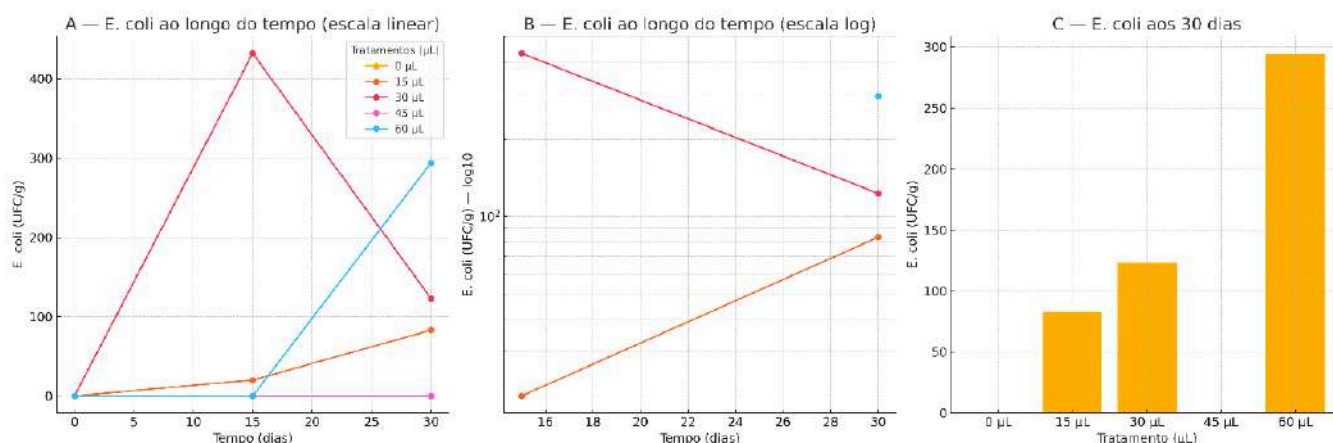
**Tabela 5.** Perfil microbiológico de queijos coalho elaborados com diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho ao longo do período de maturação.

Grupo microbiano (UFC/g)	Queijos com óleos essenciais (OE)					Interpretação <sup>1</sup>
	Sem OE	15 µL	30 µL	45 µL	60 µL	
Tempo 0						
<i>Staphylococcus aureus</i>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<3,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	Qualidade aceitável
<i>Escherichia coli</i>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	Qualidade aceitável
<i>Listeria spp.</i> <sup>2</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	Qualidade aceitável
<i>Salmonella spp.</i>	0	0	0	0	0	Qualidade aceitável
Tempo 15						
<i>Staphylococcus aureus</i>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	Qualidade aceitável
<i>Escherichia coli</i>	<1,0*10 <sup>1</sup>	2,0*10 <sup>1</sup>	4,32*10 <sup>2</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	Qualidade intermediária
<i>Listeria spp.</i> <sup>2</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	Qualidade aceitável
<i>Salmonella spp.</i>	0	0	0	0	0	Qualidade aceitável
Tempo 30						
<i>Staphylococcus aureus</i>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	Qualidade aceitável
<i>Escherichia coli</i>	<1,0*10 <sup>1</sup>	8,3*10 <sup>1</sup>	1,23*10 <sup>2</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	2,94*10 <sup>2</sup>	Qualidade

intermediária

<i>Listeria spp.</i> <sup>2</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	<1,0*10 <sup>1</sup>	Qualidade aceitável
<i>Salmonella spp.</i>	0	0	0	0	0	Qualidade aceitável

<sup>1</sup>Plano de amostragem de três classes segundo o RDC n° 724/2022; <sup>2</sup>Testes de coloração de Gram e motilidade do meio SIM enfraqueceram a identidade da espécie *Listeria monocytogenes*.



**Figura 1.** Comportamento de *Escherichia coli* nos queijos elaborados com diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho ao longo do período de maturação. **(A)** Variação das contagens de *E. coli* em escala linear nos tempos 0, 15 e 30 dias. **(B)** Representação das mesmas contagens em escala logarítmica ( $\log^{10}$ ), evidenciando diferenças de ordem de magnitude e permitindo visualização mais precisa dos picos de crescimento microbiano. **(C)** Contagens finais de *E. coli* aos 30 dias para cada tratamento, destacando o efeito não linear do óleo essencial. As linhas ausentes nos gráficos A e B para os tratamentos 0 µL e 45 µL indicam ausência total de detecção de *E. coli* ( $<1,0 \times 10^1$  UFC/g). A escala logarítmica utiliza valores ausentes para contagens zeradas, de acordo com a recomendação metodológica para dados microbiológicos.

Nos tratamentos 0 µL e 45 µL, *E. coli* permaneceu abaixo do limite de detecção ( $<1,0 \times 10^1$  UFC/g) em todos os tempos, indicando supressão total. Entretanto, em 15, 30 e 60 µL foram observadas contagens detectáveis, com destaque para o tratamento 30 µL, que apresentou o maior pico aos 15 dias ( $4,32 \times 10^2$  UFC/g), seguido de redução subsequente. Esse comportamento confirma um padrão não linear de resposta ao óleo essencial, consistente com a literatura que descreve redução da eficácia dos compostos fenólicos em concentrações intermediárias ou excessivas devido a efeitos como agregação hidrofóbica, saturação de sítios de ação e sequestro lipídico (*lipid sink effect*) (Burt, 2004; Hyldgaard; Mygind; Meyer, 2012; Domínguez *et al.*, 2019).

No entanto, a ocorrência de *E. coli* apenas em alguns tratamentos e tempos também sugere a possibilidade de contaminação pós-processamento, especialmente porque os queijos eram manipulados e revirados manualmente durante a maturação. Enterobacteriaceae, grupo que inclui *E. coli*, são amplamente reconhecidas como indicadores de higiene ambiental e fontes frequentes de contaminação cruzada em operações de manipulação e maturação de queijos (Jay; Loessner; Golden, 2005; Icmsf, 2011; Ryser; Marth, 2007). Assim, a presença de *E. coli* em concentrações transitórias pode refletir tanto a permissividade microambiental produzida por determinadas concentrações do óleo essencial quanto a introdução acidental do microrganismo durante o manejo, especialmente em superfícies, utensílios ou manipulação manual. Esse cenário é coerente com o fato de que *E. coli* não cresceu nos tempos iniciais, mas emergiu aos 15 e 30 dias, períodos nos quais o queijo havia sido manipulado repetidas vezes.

Em contraste, *Staphylococcus aureus* permaneceu abaixo do limite de quantificação em todos os tratamentos e tempos, indicando condições tecnológicas adequadas para impedir sua multiplicação e ausência de contaminação cruzada relevante. Esse resultado é consistente com estudos que demonstram forte sensibilidade de *S. aureus* a pH baixo, redução de atividade de água e falta de condições para produção de enterotoxinas em ambientes acidificados (Le Loir; Baron; Gautier, 2003). Da mesma forma, *Salmonella* spp. esteve ausente em todas as amostras, confirmando a segurança sanitária do processamento, uma vez que esse patógeno raramente persiste em queijos submetidos a maturação adequada (Ilsi, 2018; Fda, 2020).

*Listeria monocytogenes*, embora detectada no leite cru, manteve-se em contagens baixas e não apresentou crescimento em nenhum tratamento. Esse comportamento está de acordo com o efeito combinado de acidificação, redução de atividade de água e competição da microbiota láctica, barreiras amplamente relatadas como limitantes da sobrevivência e multiplicação de *Listeria* em queijos maturados (Gandhi; Chikindas, 2007; D'amico; Donnelly; Druckman, 2008).

De forma integrada, os resultados reforçam que a maturação constituiu a principal barreira microbiológica do produto, enquanto o óleo essencial modulou a resposta de *E. coli* de modo dependente da concentração e da interação com a matriz do queijo. O desempenho ótimo observado em 45  $\mu$ L, sem detecção da bactéria em nenhum tempo, sugere que essa concentração oferece melhor estabilidade antimicrobiana e microestrutural. Em contrapartida, o crescimento pontual nos tratamentos 15, 30 e 60  $\mu$ L pode ser interpretado como resultado tanto da menor eficácia do óleo nessas concentrações quanto de contaminação cruzada

associada à manipulação ao longo da maturação, reforçando a necessidade de cuidados rigorosos de higiene durante o manuseio.

A adição de óleo essencial de tomilho influenciou de maneira significativa diversos atributos sensoriais do queijo (Tabela 6). O teste de Friedman revelou diferenças globais entre as concentrações para atributos como odor de tomilho, sabor de tomilho, sabor salgado, sabor ácido, umidade e maciez, especialmente no tempo inicial de maturação. Essas diferenças foram refinadas pelo teste de Page (Figuras 2, 3, 4, 5 e 6), que demonstrou tendências monotônicas crescentes em função da concentração, indicando uma relação clara de dose-resposta. Segundo Meilgaard, Civille & Carr (2016), esse tipo de padrão é característico quando um ingrediente de alta intensidade sensorial é incorporado ao alimento, sobretudo quando associado a compostos voláteis com alta atividade aromática.

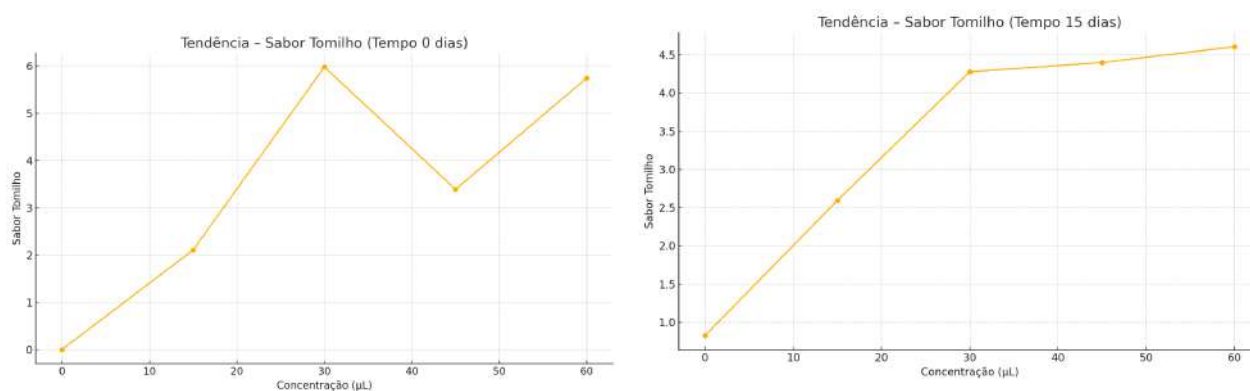
**Tabela 6.** Atributos sensoriais avaliados em decorrência da adição de diferentes concentrações do óleo essencial de tomilho em dois períodos de maturação.

	0 $\mu$ L	15 $\mu$ L	30 $\mu$ L	45 $\mu$ L	60 $\mu$ L	p-Friedman <sup>1</sup>	p-Page <sup>2</sup>
Tempo 0							
Aparência Geral	8.21	7.93	7.53	8.15	7.43	0.282	0.0839
Cor	0.98	1.21	1.65	1.02	1.35	0.013	0.3748
Odor Característico	3.03	2.85	2.77	2.81	3.14	0.9	0.8153
Odor Tomilho	0.00	1.46	3.78	2.42	3.52	3.36e-06	3.29e-11
Odor Estranho	0.11	0.14	0.37	0.24	0.16	0.05	0.3041
Maciez	6.15	6.63	7.83	5.39	8.26	4.91e-07	0.000128
Umidade	5.46	5.73	7.34	4.73	7.07	1.31e-06	0.02496
Olhaduras	1.36	1.54	2.33	1.09	1.95	0.039	0.2827
Sabor Ácido	1.02	1.11	1.75	1.30	1.60	0.126	0.03556
Sabor Salgado	2.36	2.60	5.03	2.59	4.13	9.6e-05	0.00378
Sabor Tomilho	0.00	2.11	5.98	3.39	5.75	6.4e-07	4.74e-12
Sabor Estranho	0.18	0.13	0.16	0.22	0.15	0.579	0.3266
Preferência	3.13	2.93	3.15	2.90	2.67	0.851	0.4548
Intenção Compra	3.90	4.07	3.98	3.77	3.77	0.882	0.4548
Tempo 15							
Aparência Geral	8.92	8.60	8.11	9.06	8.55	0.143	0.9627
Cor	1.41	1.77	1.56	1.77	1.70	0.625	0.2827
Odor Característico	3.65	3.00	3.10	3.23	3.59	0.684	0.6073
Odor Tomilho	1.19	2.82	3.35	3.36	3.48	0.0167	8.7e-05
Odor Estranho	0.25	0.48	0.20	0.53	0.67	0.768	0.3748
Maciez	6.55	7.22	7.22	6.51	6.99	0.335	0.8518
Umidade	5.22	6.14	6.55	5.72	6.53	0.00348	0.000459
Olhaduras	1.02	1.62	1.99	1.13	1.59	0.216	0.02814
Sabor Ácido	0.97	1.46	1.81	2.12	2.66	0.136	0.000322
Sabor Salgado	1.92	2.88	3.77	2.66	3.33	0.0586	0.00776
Sabor Tomilho	0.83	2.59	4.28	4.40	4.60	0.000556	2.24e-09
Sabor Estranho	0.06	0.28	0.48	1.17	0.57	0.0954	0.0172
Preferência	2.67	2.60	2.93	3.80	2.67	0.279	0.2072
Intenção Compra	4.63	4.40	4.33	3.23	4.37	0.0397	0.00585

<sup>1</sup>Teste não paramétrico de Friedman (Friedman test); <sup>2</sup>Teste de Page.

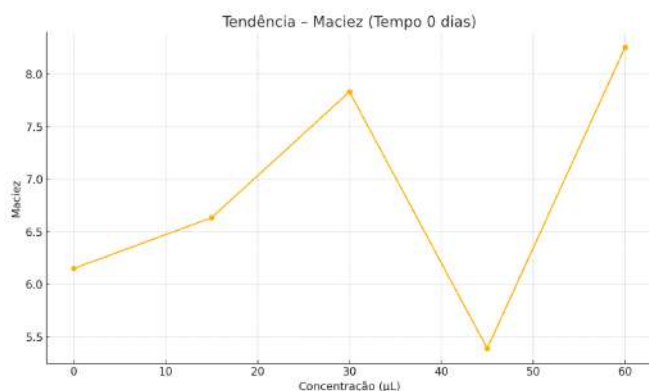


**Figura 2.** Tendência das médias sensoriais para a variável “Odor tomilho” influenciados pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ), nos tempos 0 e 15 dias de maturação.

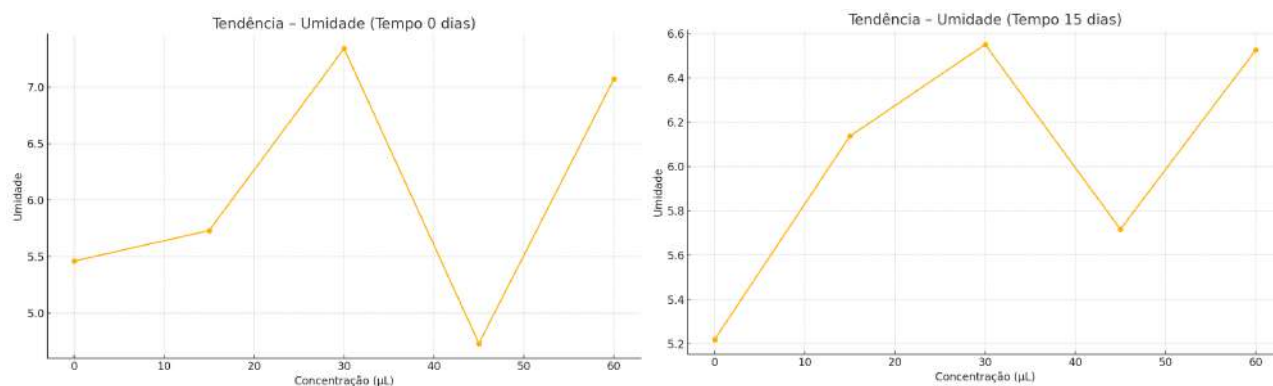


**Figura 3.** Tendência das médias sensoriais para a variável “Sabor tomilho” influenciados pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ), nos tempos 0 e 15 dias de maturação.

O aumento progressivo de odor de tomilho (Figura 2) e sabor de tomilho (Figura 3) com o incremento das concentrações confirma a forte contribuição dos compostos fenólicos do óleo essencial, especialmente timol e carvacrol, para o perfil sensorial. Esses compostos são reconhecidos por sua elevada volatilidade e impacto aromático, o que explica o aumento consistente captado pelos avaliadores (Burt, 2004; Hyldgaard, Mygind & Meyer, 2012). A tendência monotônica observada em ambos os tempos de maturação reforça que o estímulo sensorial provocado pelo óleo permanece perceptível mesmo após 15 dias, sugerindo boa estabilidade dos voláteis no produto, possivelmente favorecida pela matriz lipídica do queijo, conhecida por reter aromas hidrofóbicos (McSweeney, 2004).

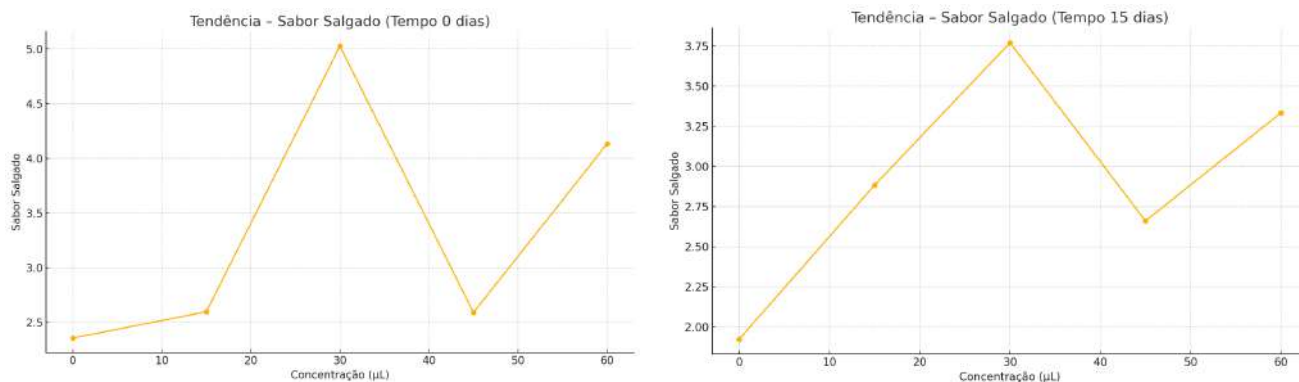


**Figura 4.** Tendência das médias sensoriais para a variável “Maciez” influenciadas pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ), nos tempos 0 e 15 dias de maturação.



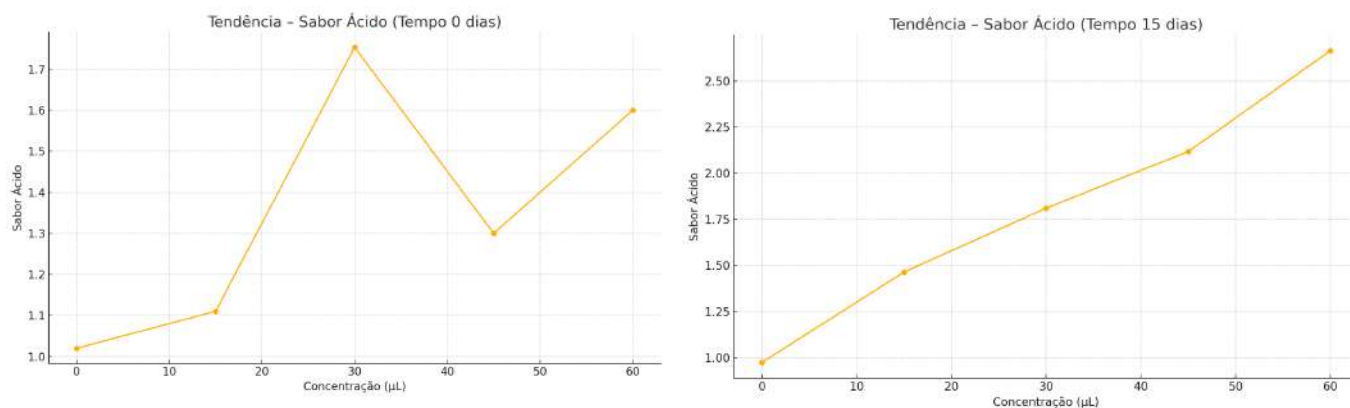
**Figura 5.** Tendência das médias sensoriais para a variável “Umidade” influenciadas pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ), nos tempos 0 e 15 dias de maturação.

A maciez e a umidade também apresentaram tendências crescentes, o que pode estar associado à ação dos compostos bioativos do óleo essencial sobre a microestrutura da massa, influenciando a retenção de água ou interações com proteínas. Trabalhos prévios mostram que óleos essenciais podem alterar propriedades reológicas e tecnológicas de produtos lácteos, devido à interação com micelas de caseína e membranas lipoproteicas (Najgebauer-Lejko *et al.*, 2020). Além disso, a maturação inicial (0 dias) representa um sistema ainda pouco consolidado estruturalmente, tornando esses atributos mais sensíveis a variações na formulação.



**Figura 6.** Tendência das médias sensoriais para a variável “sabor salgado” influenciados pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ), nos tempos 0 e 15 dias de maturação.

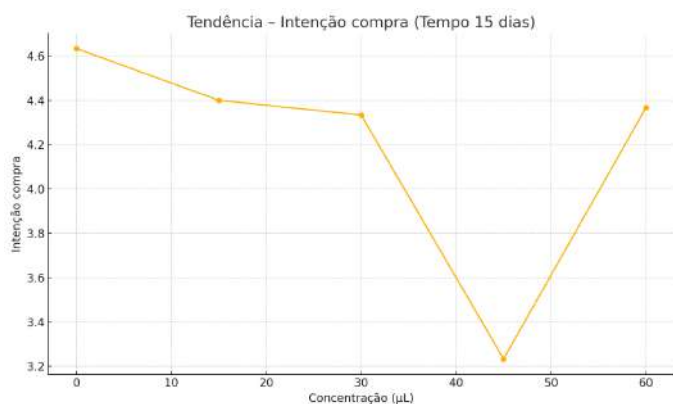
O sabor salgado, embora não seja diretamente relacionado ao óleo essencial, também apresentou tendência crescente. Isso pode ser explicado pela sinergia perceptual entre compostos aromáticos e estímulos gustativos, fenômeno amplamente documentado na literatura (Prescott, 2015). A presença de aromas intensos pode realçar a percepção gustativa, modulando a interpretação do avaliador sobre a salinidade.



**Figura 7.** Tendência das médias sensoriais para a variável “sabor ácido” influenciados pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ), nos tempos 0 e 15 dias de maturação.

Já o sabor ácido apresentou incremento com a concentração do óleo, sobretudo aos 15 dias. Esse resultado pode refletir a interação dos compostos fenólicos com o equilíbrio sensorial global, além de possíveis mudanças no pH superficial devido ao efeito antimicrobiano do óleo, especialmente sobre bactérias lácticas (Otoni *et al.*, 2014). A sutil diminuição da acidez nos tratamentos intermediários reflete o equilíbrio entre os atributos

gustativos e aromáticos, um comportamento observado em outros estudos com óleos essenciais incorporados a queijos (Najgebauer-Lejko *et al.*, 2011).



**Figura 8.** Tendência das médias para a intenção de compra aos 15 dias de maturação influenciados pela concentração de óleo essencial de tomilho, conforme teste de Page ( $p < 0,05$ ).

A intenção de compra, que apresentou tendência significativa aos 15 dias, sugere que os consumidores preferem produtos com aroma mais pronunciado de tomilho, desde que não ultrapasse o limiar de aceitabilidade sensorial. Trabalhos semelhantes mostram que aditivos naturais aromáticos podem melhorar a aceitação de queijos, especialmente quando o perfil aromático é congruente com o produto (Caleja *et al.*, 2017). Entretanto, os valores mais baixos observados em concentrações intermediárias e altas indicam possível saturação sensorial ou adaptação perceptual dos avaliadores.

A ausência de diferenças significativas em alguns atributos, como aparência geral, odor característico e sabor estranho, reforça que a principal ação do óleo essencial é sobre atributos aromáticos e gustativos específicos, sem comprometer a integridade sensorial global do produto. Esse comportamento é desejável quando se pretende desenvolver produtos lácteos com ingredientes naturais funcionais, preservando suas qualidades tradicionais.

## 6. CONCLUSÃO

Conclui-se que a adição do óleo essencial de tomilho ao queijo coalho apresenta-se como uma alternativa promissora para aprimorar características organolépticas, e auxilia na estabilidade microbiológica, sendo a concentração de 45 µL a mais eficaz para esse controle. Além disso, atua na fração estrutural do queijo, influenciando a mudança físico-química do produto durante sua maturação. Portanto, sua aplicação tecnológica deve avaliar com cautela as interações complexas que surgem dessa matriz de composição muito variada.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Ana Paula Ferreira de et al. Qualidade microbiológica do queijo coalho artesanal na região Nordeste do Brasil: uma revisão. **Revista Ciência Agronômica**, v. 53, n. 2, 2022.

ABRANTES, Maria Rociene; DA SILVA CAMPÊLO, Carla; DA SILVA, Jean Berg Alves. Fraude em leite: Métodos de detecção e implicações para o consumidor. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 73, n. 3, p. 244-251, 2014.

BALDINI, Vera Lúcia Signoreli. Proteólise em queijo tipo Prato durante a maturação. 1998. 208 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) — Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

BONDARCZUK, Nicole Hiller. Identidade e qualidade dos queijos de origem brasileira. **1. ed. São Paulo: Editora Senac**, 2020.

BRASIL. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF**, n. 62, p. 3, 2017.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223–253, 2004.

CALEJ, C. *et al.* (2017). Fortification of yogurts with different plant extracts: effects on physicochemical properties and antioxidant activity. **Journal of Food Science**, 82, 1626–1635.

CAVALCANTE, J. F. M. (Org.). Queijo Coalho Artesanal do Nordeste do Brasil. **Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil**, 2017.

CARVALHO, Rayssa Julliane de et al. Efeito inibitório do óleo essencial de *Thymus vulgaris* L. frente a bactérias patogênicas e ácido láctico de importância em queijo de coalho. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 70, n. 3, p. 123-134, 2015.

D'AMICO, D. J.; DONNELLY, C. W.; DRUCKMAN, D. A. Behavior of *Listeria monocytogenes* in raw milk cheese during aging. **Journal of Food Protection**, v. 71, n. 7, p. 1376–1384, 2008.

DA SILVA, José Natan Gonçalves; MENEZES, Sônia de Souza Mendonça. Entre sabores, sentidos e experiências a construção de percepções sobre as qualidades sensoriais do queijo coalho em Alagoas. **Geograficidade**, v. 13, n. 2, p. 47-66, 2023.

DE PAULA, Junio César Jacinto; DE CARVALHO, Antônio Fernandes; FURTADO, Mauro Mansur. Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 367, p. 19-25, 2009.

DE VASCONCELOS, Brenda Hilary Avelino. EFICIÊNCIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS E SEUS FITOCONSTITUINTES CONTRA MICRO-ORGANISMOS PATOGÊNICOS E DETERIORADORES EM QUEIJO DE COALHO. 2023. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2023.

DOMÍNGUEZ, R. *et al.* A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. **Antioxidants**, v. 8, n. 10, p. 429, 2019.

EPAMIG. Maturação de queijos: fundamentos básicos. **Cartilha Técnica**, Juiz de Fora, 2025.

VILLAGE. Como o selo de Indicação Geográfica valoriza produtos regionais. 2024.

FDA – U.S. Food and Drug Administration. Food Code 2020. **Silver Spring, MD**, 2020.

FONSECA, Suzana Horta *et al.* Fatores relacionados à maturação de queijos artesanais que apresentam efeitos deletérios sobre microrganismos patogênicos - uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 77, n. 4, p. 227-238, 2022.

GALOVIČOVÁ, Lucia *et al.* *Thymus vulgaris* essential oil and its biological activity. **Plants**, v. 10, n. 9, p. 1959, 2021.

GANDHI, M.; CHIKINDAS, M. L. *Listeria*: a foodborne pathogen that knows how to survive. **International Journal of Food Microbiology**, v. 113, n. 1, p. 1–15, 2007.

GOVARIS, Alexander *et al.* Antibacterial activity of oregano and thyme essential oils against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 in feta cheese packaged under modified atmosphere. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 1240-1244, 2011.

HAMZALIOĞLU, B. A. *et al.* Casein–phenol interactions during digestion affect the bioaccessibility of phenols and peptides. **Food & Function**, v. 14, p. 12345–12360, 2023.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: mode of action, interactions and synergies. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 12, 2012.

ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in Foods 8: Use of Data for Assessing Process Control and Product Acceptance. **New York: Springer**, 2011.

ILSI – **International Life Sciences Institute**. Risk Assessment of *Listeria* in Ready-to-Eat Foods. Washington, DC, 2018.

IZIDORO, Maiqui *et al.* Propriedades funcionais e organolépticas de plantas condimentares: Revisão. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. e2010614958-e2010614958, 2021.

Meilgaard, M.; Civille, G. V.; Carr, B. T. Sensory Evaluation Techniques. **CRC Press**, 2016.

MCSWEENEY, P. . Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, 57, 127–144, 2004.

MA, J.; TRIBET, C.; GUYOT, S. Tannin-controlled micelles and fibrils of  $\kappa$ -casein. **Food Hydrocolloids**, 2019.

NAJGEBAUER-LEJKO, D. *et al.*. The effect of addition of selected plant extracts on the quality of cheese. **Food Technology and Biotechnology**, 49(4), 486–494, 2011.

NAJGEBAUER-LEJKO, D. *et al.* Impact of herbs and essential oils on physicochemical and sensory characteristics of dairy products. **Foods**, 9, 1720, 2020.

NASSU, R. T.; MACEDO, B. A.; LIMA, M. M. P. Queijo de coalho. Coleção Agroindústria Familiar - Agregando valor a pequena produção. **Embrapa Informação Tecnológica**, 40 p., Brasília - DF, 2006.

OLIVEIRA, C. A. F. *et al.* Raw milk microbiology: a review. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 1, p. 1–11, 2019.

OTONI, C. G. *et al.* Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 13(4), 435–451, 2014.

PEREIRA, E. *et al.* Essential oils and their application in food safety: a review. **Food Research International**, v. 76, p. 709–728, 2015.

PRESCOTT, J. Multimodal chemosensory interactions and flavour perception. **Trends in Food Science & Technology**, 47, 14–21, 2015.

RYESER, E. T.; MARTH, E. H. *Listeria*, Listeriosis, and Food Safety. 3. ed. **Boca Raton: CRC Press**, 2007.

JAKIEMIU, Elizabete Aparecida Ruzza *et al.* Estudo da composição e do rendimento do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris L.*). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 683-688, 2010.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. *Modern Food Microbiology*. 7. ed. **New York: Springer**, 2005.

KOWALCZYK, Adam *et al.* Thymol and Thyme Essential Oil—New Insights into Selected Therapeutic Applications. **Molecules**, [S. l.], v. 25, n. 18, p. 4125, 2020.

LAWLESS, H. T.; HEYMANN, H. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. **Springer**, 2010.

LE LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER, M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. **Genetics and Molecular Research**, v. 2, n. 1, p. 63–76, 2003.

LIMA, Carla Ferreira de. *Estudo do tempo de maturação do Queijo Minas Artesanal do Triângulo Mineiro: análises microbiológicas e físico-químicas*. 2021. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2021.

LORENZO, J. M.; MUNEKATA, P. E. S. Physicochemical changes in meat products during storage and aging. **Meat Science**, v. 120, p. 136–144, 2016.

PROENÇA, Ana Rita Cordeiro. Caracterização físico-química e microbiológica de leite e queijo durante os processos de produção e maturação. MS thesis. Universidade da Beira Interior (Portugal), 2020.

RAWEL HM, Czajka D, Rohn S, Kroll J. Interactions of different phenolic acids and flavonoids with soy proteins. **Int J Biol Macromol**, 2002.

RODRIGUES, Welder Mariano. Estudos sobre a utilização de óleos essenciais em queijos com alta umidade. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2021.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Lipid oxidation and improving the oxidative stability of food. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 3, p. R109–R119, 2010.

SLADEK, M.; RASOLOFO, A. Dairy microbiological safety: current challenges and perspectives. **Microorganisms**, v. 10, n. 4, p. 800, 2022.

SILVA, Ana Sanches *et al.* The evidence of health benefits and food applications of *Thymus vulgaris* L. **Trends in Food Science & Technology**, v. 117, p. 218-227, 2021.

SILVA, R. N. R.; MARQUES, C. A. T. Processos da maturação em queijos. In: **I Simpósio Online Sulamericano de Tecnologia, Engenharia e Ciência de Alimentos**, 2022.

SILVA, S. F. Composição e qualidade do leite no Alto Paranaíba de Minas Gerais. 2019. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2019.

SOARES, Eveline K. B. *et al.* An intra-cultural investigation in Brazil using Coalho cheese and preferred attribute elicitation. **Journal of Sensory Studies**, v. 35, n. 1, p. e12543, 2020.

SIQUEIRA, Maria Fernanda Fernandes. Óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*): Atividade antimicrobiana contra fungos isolados de alimentos e aplicação como componente

ativo em filme de acetato de celulose. 2021. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2021.

TISCHER, Núbia Foguesatto et al. Boas práticas de higiene durante a ordenha. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 1, n. 1, p. 179-187, 2018.

TOLDRÁ, F.; FLORES, M. Biological and chemical changes during dry-cured meat processing. **Meat Science**, v. 109, p. 1–7, 2015.

TOLDRÁ, F. Lawrie's Meat Science. 8. ed. **Cambridge: Woodhead Publishing**, 2017.

TOSIF, A. *et al.* Structural and functional properties of milk protein–polyphenol complexes: a comprehensive review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 24, p. 13548, 2021.

ZANTAR, Said *et al.* Effect of *Thymus vulgaris* and *Origanum compactum* essential oils on the shelf life of fresh goat cheese. **Journal of Essential Oil Research**, v. 26, n. 2, p. 76-84, 2014.

VAN DE LANGERIJT, G. *et al.* Structural, binding and functional properties of milk protein–polyphenol systems. **Molecules**, v. 28, n. 5, p. 2288, 2023.

VIUDA-MARTOS, M. *et al.* Antifungal activity of *Thymus vulgaris* essential oil and its effect on quality of meat products. **Journal of Food Protection**, v. 71, n. 1, p. 79–86, 2008.

YILDIRIM-ELIKOĞLU, S.; ERDEM, Y. K. Interactions between milk proteins and polyphenols: binding mechanisms and implications. **Food Chemistry**, v. 255, p. 282–289, 2018.