UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO LEITE E DERIVADOS

Sarah Pereira Lima

EFEITO DO TIPO DE EMBALAGEM NA FORMAÇÃO DE AMINAS BIOGÊNICAS, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E PERFIL DE TEXTURA DO QUEIJO AZUL

Sarah Pereira Lima

EFEITO DO TIPO DE EMBALAGEM NA FORMAÇÃO DE AMINAS BIOGÊNICAS, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E PERFIL DE TEXTURA DO QUEIJO AZUL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

Orientadora: Profa Dra Renata Golin Bueno Costa

Coorientadoras: Profa Dra Gisela de Magalhães Machado Moreira

Profa^a Dr^a Denise Sobral

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Pereira Lima, Sarah.

EFEITO DO TIPO DE EMBALAGEM NA FORMAÇÃO DE AMINAS BIOGÊNICAS, CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E PERFIL DE TEXTURA DO QUEIJO AZUL / Sarah Pereira Lima. -- 2025.

65 f.

Orientadora: Renata Golin Bueno Costa Coorientadora: Gisela de Magalhães Machado Moreira Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, 2025.

 Maturação.
 Proteólise.
 Efeitos adversos.
 Golin Bueno Costa, Renata, orient.
 de Magalhães Machado Moreira, Gisela, coorient.
 III. Título.

Sarah Pereira Lima

Efeito do tipo de embalagem na formação de aminas biogênicas, características físicoquímicas e perfil de textura do queijo azul

> Dissertação apresentada Programa de Pósgraduação Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do título de Mestre Ciência e em Tecnologia do Leite e Derivados. Área de concentração: Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados.

Aprovada em 07 de fevereiro de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Renata Golin Bueno Costa - Orientadora EPAMIG/ILCT

Profa. Dra. Denise Sobral - Coorientadora EPAMIG/ILCT

Profa. Dra. Gisela de Magalhães Machado Moreira - Coorientadora EPAMIG/ILCT

Profa. Dra. Vanessa Aglaê Martins Teodoro

Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. Dra. Flávia Beatriz Custódio

Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Junio César Jacinto de Paula

EPAMIG/ILCT

Juiz de Fora, 21/01/2025.



Documento assinado eletronicamente por Renata Golin Bueno Costa, Usuário Externo, em 10/02/2025, às 15:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por GISELA DE MAGALHAES MACHADO MOREIRA, Usuário Externo, em 11/02/2025, às 10:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Denise Sobral, Usuário Externo**, em 11/02/2025, às 14:29, conforme horário oficial de Brasilia, com fundamento no § 3º do art. 4º do <u>Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020</u>.



Documento assinado eletronicamente por Vanessa Aglaê Martins Teodoro, Professor(a), em 12/02/2025, às 10:42, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Flávia Beatriz Custódio, Usuário Externo,** em 12/02/2025, às 11:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Junio Cesar J. de Paula, Usuário Externo**, em 14/02/2025, às 09:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do <u>Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020</u>.



A autenticidade deste documento pode ser conferida no Portal do SEI-Ufjf (www2.ufjf.br/SEI) através do ícone Conferência de Documentos, informando o código verificador 2202821 e o código CRC 37961885.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, pois sem Ele nada seria possível. À minha família, em especial ao meu esposo, Omar Barakat, por todo apoio e compreensão ao longo dessa jornada.

Agradeço a professora Dra. Denise Sobral pelo acolhimento e a minha orientadora, Prof. Dra. Renata Golin Bueno Costa, pelo carinho, orientação e comprometimento durante toda a realização desta pesquisa. Muito obrigada!

A minha coorientadora Prof. Dra. Gisela de Magalhães Machado Moreira, sou imensamente grata pela oportunidade, carinho e por estar sempre presente, acreditando em mim, me apoiando e incentivando. Muito obrigada!

Deixo um agradecimento especial a todos os professores, pesquisadores e colaboradores do Instituto de Laticínios Cândido Tostes (EPAMIG/ILCT), que me proporcionaram um enorme crescimento profissional e fizeram deste lugar a minha segunda casa. Agradeço também às bolsistas de pesquisa e iniciação científica que contribuíram para a realização deste projeto.

Por fim, gostaria de expressar minha gratidão às instituições envolvidas: a Universidade Federal de Juiz de Fora, ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados, e à Universidade Federal de Minas Gerais pela recepção e aprendizado.

Agradeço ainda o apoio e financiamento da pesquisa à FAPEMIG.

RESUMO

Os queijos azuis fabricados no Brasil são considerados importantes para a economia e sua produção ultrapassa 10mil toneladas/ano. São caracterizados pela presença do fungo filamentoso Penicillium roqueforti, responsável por conferir sabor e textura única ao queijo. Estudos relacionados à maturação e à utilização de diferentes embalagens contribuem para o controle de qualidade e a segurança desse alimento. Dentre os eventos bioquímicos que ocorrem durante a maturação de queijos, destaca-se a proteólise, que consiste na degradação das caseínas. As aminas biogênicas são geradas por meio de reações de descarboxilação, mediadas por descarboxilases bacterianas, sendo esta a principal via de formação de aminas nos alimentos. Este estudo teve por objetivo avaliar a influência das embalagens plástica a vácuo e alumínio na formação de aminas biogênicas em queijo azul e o impacto nas características físico-químicas e perfil de textura. Para fabricação dos queijos foi utilizado leite bovino. Após o crescimento do Penicillium roqueforti (14 dias após a etapa de furo do queijo), estes foram embalados em diferentes embalagens (alumínio e plástico a vácuo) e maturados ao longo de 60 dias a uma temperatura de 12°C. O experimento foi realizado em 3 repetições e os queijos foram analisados aos 1, 15, 30, 45, 60 dias de maturação. Foram realizadas análises físico-químicas para determinação da composição centesimal dos queijos (percentual de umidade, gordura, proteína, resíduo mineral fixo), cloretos (expresso em cloreto de sódio), índices de proteólise (extensão e profundidade), pH, atividade de água e perfil de textura, bem como a determinação de aminas bioativas. Não houve efeito significativo do tipo de embalagem para umidade, gordura, proteína, resíduo mineral fixo, cloretos e atividade de água.. Para os valores de pH não houve diferença no tempo de maturação para os queijos embalados em plástico (P>0,05), mas houve para os embalados em alumínio, sendo que o pH dos queijos embalados em alumínio no último tempo de maturação foi significativamente maior que o do primeiro tempo (P<0,05). Em média, os queijos embalados em alumínio tiveram o pH maior que os embalados em plástico à vácuo (P<0,05). Em relação aos índices de proteólise dos queijos, não foi observada influência do tipo de embalagem (P>0,05). Na embalagem alumínio, a alteração da extensão e da profundidade dos queijos ao longo da maturação não foi significativa (P>0,05), enquanto na embalagem plástica, o tempo de maturação levou a um aumento dos índices de proteólise (P<0,05) dos

queijos. Para o perfil de textura, os parâmetros analisados (dureza, coesividade, elasticidade e mastigabilidade) não apresentaram diferença significativa (P>0,05) em relação ao tipo de embalagem e somente a coesividade apresentou nas diferentes embalagens diferença significativa (P<0,05) ao longo do tempo de maturação. Para as aminas bioativas o teor de feniletilamina nos queijos azuis apresentou diferença entre as embalagens, sendo a média 9,71±7,30 mg/kg do queijo em embalagem alumínio significativamente inferior a 22,56±9,89 mg/kg do queijo em embalagem plástica. Com relação ao tempo de maturação, esta amina não apresentou diferença significativa nos queijos embalados em plástico a vácuo (P>0,05), no entanto, nos queijos embalados em alumínio, o teor de feniletilamina aumentou com o tempo (P<0,05). O teor de espermina no queijo embalado em alumínio (156,93±85,94 mg/kg) foi menor (P<0,05) que no queijo embalado em plástico (244,72±63,75) mg/kg). O teor de tiramina apresentou correlação de Pearson significativa (P<0,05) positiva com a profundidade de proteólise, e negativa com a coesividade e atividade de água, indicando que quanto maior a proteólise dos queijos e menor a atividade de água, maior o teor de tiramina nos queijos azuis. A serotonina apresentou correlação positiva (P<0,05) com a atividade de água, agmatina com o resíduo mineral fixo e espermidina com o teor de sal. Espermina correlacionou-se negativamente com o pH e a extensão da proteólise, agmatina com o pH (P<0,05). Para a Análise de Componentes Principais (PCA) realizada com os dados obtidos dos parâmetros físico-químicos, perfil de textura e teores de aminas bioativas ao longo do tempo, PC1 foi responsável por 46,96% das variações e apresentou correlações positivas altas com serotonina (0,618), espermina (0,912), atividade de água (0,938), coesividade (0,995) e mastigabilidade (0,929). Ambas as embalagens permitiram que os principais fatores relacionados à maturação dos queijos azuis evoluíssem de forma adequada. Em relação às aminas biogênicas as correlações analisadas demonstraram o quanto são complexas as interações bioquímicas que ocorrem durante a maturação dos queijos azuis, levando à formação de aminoácidos livres, que por descarboxilação geram as aminas biogênicas. Buscar compreender a dinâmica de formação das aminas, em função de fatores como invólucros, temperatura, pH, é importante de forma a minimizar a formação de aminas, tornando os queijos mais seguros.

Palavras-chave: maturação, proteólise, efeitos adversos, invólucro.

ABSTRACT

Blue cheeses produced in Brazil are considered important for the economy and their production exceeds 10 million tons/year. They are characterized by the presence of the filamentous fungus Penicillium roqueforti, wich is responsible for giving the cheese its unique flavor and texture. Studies related to ripening and the use of different packaging contribute to the quality control and safety of this food. Among the biochemical events that occur during cheese ripening, proteolysis stands out, which consists of the degradation of caseins. Biogenic amines are generated through decarboxylation reactions, mediated by bacterial decarboxylases, which is the main pathway of amine formation in foods. This study aimed to evaluate the influence of vacuum plastic and aluminum packaging on the formation of biogenic amines in blue cheese and the impact on the physicochemical characteristics and texture profile. Bovine milk was used to manufacture the cheeses. After the growth of Penicillium roqueforti (14 days after the cheese puncture stage), the cheeses were packaged in different packages (aluminum and vacuum plastic) and ripened for 60 days at a temperature of 12°C. The experiment was carried out in 3 replicates and the cheeses were analyzed at 1, 15, 30, 45, and 60 days of ripening. Physicochemical analyses were performed to determine the centesimal composition of the cheeses (percentage of moisture, fat, protein, fixed mineral residue), chlorides (expressed as sodium chloride), proteolysis indices (extent and depth), pH, water activity, and texture profile, as well as the determination of bioactive amines. There was no significant effect of the type of packaging on moisture, fat, protein, fixed mineral residue, chlorides, and water activity. However, for the pH of the cheeses analyzed, there was a significant difference (P<0.05) between the means of the vacuum plastic packaging (5.38±0.29) and aluminum packaging (6.22±0.68), and the ripening time did not significantly influence (P>0.05) the pH of the cheeses. Regarding the proteolysis indices of the cheeses, the types of packaging did not differ from each other (P>0.05). In the aluminum packaging, the change in the extension and depth of the cheeses throughout the ripening process was not significant (P>0.05), while in the plastic packaging, the ripening time led to an increase in the proteolysis indices (P<0.05) of the cheeses. For the texture profile, the parameters analyzed (hardness, cohesiveness, elasticity, and chewiness of the blue cheeses) did not present any significant difference (P>0.05) concerning the type

of packaging and only the cohesiveness showed a significant difference (P<0.05) in the different packages over the ripening time. For the bioactive amines, the phenylethylamine content in the blue cheeses showed a difference between the packages, with an average of 9.71±7.30 mg/kg in aluminum packaging, significantly lower than 22.56±9.89 mg/kg in plastic packaging. Regarding ripening time, this amine did not show a significant difference in the cheeses packed in vacuum plastic (P>0.05); however, in the cheeses packed in aluminum, the phenylethylamine content increased over time (P<0.05). Spermine content in the cheese packaged in aluminum (156.93±85.94 mg/kg) was lower (P<0.05) than in the cheese packaged in plastic (244.72±63.75 mg/kg). Tyramine content showed a significant positive (P<0.05) Pearson correlation with the depth of proteolysis, and a negative correlation with cohesiveness and water activity, indicating that the greater the proteolysis of the cheeses and the lower the water activity, the higher the tyramine content in the blue cheeses. Serotonin correlated positively (P<0.05) with water activity, agmatine with fixed mineral residue, and spermidine with salt content. Spermine correlated negatively with pH and extent of proteolysis, and agmatine with pH (P<0.05). For the Principal Component Analysis (PCA) performed with the data obtained from the physicochemical parameters, texture profile and bioactive amine contents over time, PC1 was responsible for 46.96% of the variations and showed high positive correlations with serotonin (0.618), spermine (0.912), water activity (0.938), cohesiveness (0.995) and chewiness (0.929). Both packaging allowed the main factors related to the ripening of blue cheeses to evolve adequately. Regarding the biogenic amines, the analyzed correlations demonstrated how complex the biochemical interactions that occur during the ripening of blue cheeses are, leading to the formation of free amino acids, which through decarboxylation generate biogenic amines. Seeking to understand the dynamics of amine formation, as a function of factors such as packages, ripening temperature, and pH is important to minimize the formation of amines, making the cheeses safer.

Keywords: ripening, proteolysis, adverse effects, casing.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Características do queijo azul	20
Figura 2 - Morfologia do fungo Penicillium roqueforti	22
Figura 3 - Fluxograma da tecnologia de fabricação do queijo	24
Figura 4 - Classificação das aminas bioativas conforme algumas funções que	
desempenhamdesempenham	27
Figura 5 - Reação de formação de aminas por descarboxilação de aminoácido	28
Figura 6 - Desenho experimental	34
Figura 7 - Queijos azuis embalados com papel alumínio e plástico a vácuo	35
Figura 8 - Análise de textura em amostra de queijo azul	36
Figura 9 - Queijos azuis que foram embalados no alumínio com 30 dias de	
maturação após o crescimento do fungo filamentoso	42
Figura 10 - Queijos azuis embalados com embalagem plástica a vácuo com 30 d	ias
de maturação após o crescimento do mofo	43
Figura 11 - Regressão linear dos índices de proteólise extensão (%) e profundida	ade
(%) ao longo do tempo de maturação (dias)	45
Figura 12 - Regressão linear dos parâmetros de textura ao longo do tempo de	
maturação (dias)	48
Figura 13 - Cargas fatoriais da Análise Componentes Principais, sendo as	
observações ativas os tempos de maturação	56
Figura 14 - Cargas fatoriais da Análise Componentes Principais, sendo as	
observações ativas o tipo de embalagem	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Algumas reações e compostos formados durante a maturação de queijos25
Tabela 2 - Composição centesimal (média ± desvio padrão) dos queijos azuis embalados em alumínio e em embalagem plástica a vácuo40
Tabela 3 - Valores de pH (média ± desvio padrão) dos queijos azuis embalados em
alumínio e em embalagem plástica a vácuo41
Tabela 4 - Extensão e profundidade da proteólise (média ± desvio padrão) dos
queijos azuis embalados em alumínio e em embalagem plástica à vácuo44
Tabela 5 - Extensão e profundidade da proteólise (média ± desvio padrão) dos
queijos azuis embalados em alumínio e em embalagem plástica a vácuo47
Tabela 6 - Teor de aminas bioativas nos queijos azuis embalados em alumínio e
plástico a vácuo ao longo da maturação51

LISTA DE GRÁFICOS

Grafico 1	- Ted	ores	médios	de	aminas	bioativas	nos	queijos	azuis	embalados	em
alumínio e	e plást	tico a	vácuo,	ao l	longo da	maturaçã	o (m	g/kg)			52

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS	. 17
	2.1 Geral	17
	2.2 Específicos	17
3	REVISÃO DE LITERATURA	18
	3.1 Panorama geral de queijos	18
	3.2 Queijos azuis	19
	3.2.1 Histórico dos queijos azuis no Brasil	20
	3.2.2 Penicillium roqueforti	21
	3.2.3 Legislação vigente	22
	3.2.4 Tecnologia de fabricação	23
	3.2.6 Proteólise	25
3	.3 Aminas bioativas	. 26
	3.3.1 Definição e classificação	
	3.3.2 Aminas biogênicas	
3	.4 Embalagem	
	MATERIAL E MÉTODOS	
_	4.1 Localização	
	4.2 Fabricação dos queijos e desenho experimental	
	4.3 Análises físico-químicas	
	4.4 Análise perfil de textura	36
	4.5 Análises do perfil de aminas bioativas	
	4.5.1 Extração de aminas bioativas	
	4.5.2 Condições cromatográficas	
1	.6 Análises estatísticas	
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	
J		
	5.1 Efeito do tipo de embalagem e do tempo de maturação nas propriedades físico químicas e perfil de textura dos queijos azuis	
	5.1.1 Composição centesimal	38
	5.1.2 pH e atividade de água	41
5	.1.3 Índices de extensão e profundidade	.44

5.1.4 Perfil de textura	46
5.2 Efeito do tipo de embalagem e do tempo de maturação na formação de aminas bioativas dos queijos azuis	49
5.3 Análise de Componentes Principais (PCA)	55
6. CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

A produção e o consumo de queijos desempenham um papel fundamental na economia mundial. Os queijos azuis possuem origem europeia e chegaram ao Brasil por meio de imigrantes no início do século XX. Este é um alimento fermentado em que o principal agente da maturação é o fungo filamentoso *Penicillium roqueforti*, o qual proporciona características específicas, conferindo-lhe sabor, aroma e textura peculiares. Durante o processo de maturação ocorrem mudanças bioquímicas, como lipólise e proteólise, que contribuem para a formação de diversos compostos voláteis e aminoácidos. Na composição dos queijos estão presentes as caseínas, proteínas que podem ser utilizadas no metabolismo dos microrganismos presentes e em reações bioquímicas que resultam em aminoácidos livres e aminas biogênicas.

A compreensão dos fatores que influenciam a formação de aminas bioativas em queijos é essencial para desenvolver estratégias de controle e prevenção de níveis excessivos desses compostos, pois a formação de algumas aminas em concentrações elevadas pode causar efeitos adversos à saúde humana, como enxaquecas, hipertensão e reações alérgicas, principalmente em indivíduos sensíveis. Os tipos de aminas formadas e sua concentração são variáveis e dependem de fatores bioquímicos e tecnológicos, como a composição do leite e espécie, os teores de sal e umidade, e as condições de maturação e armazenamento, bem como as embalagens utilizadas para maturação e/ou comercialização. Para queijos mofados são utilizados tradicionalmente os invólucros de folha de alumínio. No entanto, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos Azuis oferece outras opções para a forma de acondicionamento do produto final, que pode ser feita em embalagens de plástico ou alumínio, com ou sem uso de vácuo.

Sendo assim, este estudo pretende contribuir para o conhecimento sobre o efeito do tipo de embalagem na formação de aminas bioativas em queijo azul e suas características físico-químicas e de textura.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a influência do tipo de embalagem na formação de aminas biogênicas em queijo azul e suas características físico-químicas e de textura.

2.2 Específicos

- Produzir queijos azuis utilizando leite bovino em 3 repetições em dois tipos de embalagens (alumínio e plástica a vácuo);
- Analisar os queijos azuis durante sua maturação quanto ao teor de aminas bioativas (putrescina, cadaverina, histamina, tiramina, serotonina, triptamina, espemidina e agmatina, feniletilamina e espermina).
- Determinar a composição centesimal (umidade, gordura, proteína, resíduo mineral fixo), cloretos (expresso em cloreto de sódio), índices de proteólise (extensão e profundidade), pH e atividade de água ao longo do tempo de maturação;
- Acompanhar durante a maturação dos queijos os parâmetros de textura (dureza, coesividade, mastigabilidade e elasticidade).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Panorama geral de queijos

O consumo de produtos lácteos tem registrado um crescimento notável ao longo dos anos, impulsionado pela demanda por alimentos percebidos como saudáveis. Esse fenômeno tem despertado um renovado interesse pela comunidade científica, na pesquisa relacionada ao leite e seus derivados (Nicklas, Drewnowski e O'neil, 2019).

O queijo é um produto lácteo fermentado, obtido por meio da concentração dos componentes sólidos do leite, como as proteínas (caseínas) e a gordura. Ocorre também a separação de sólidos solúveis, como as soroproteínas e a lactose, que estão presentes no soro. Desde sua origem, os queijos passaram por modificações que resultaram em produtos com sabores únicos, peculiares e de diferentes métodos de conservação (Paula *et al.*, 2009; Coelho *et al.*, 2023).

No ano de 2022 os Estados Unidos se destacaram por liderarem o ranking como maior país consumidor, com cerca de 6,1 milhões de toneladas/ano. Países como Alemanha, França e Itália também representaram uma grande fatia em volumes de produção e consumo (ABIQ, 2022). A União Europeia foi o principal produtor mundial de queijo, com um volume aproximado de 10 milhões de toneladas (ABIQ, 2024).

No Brasil, a fabricação de queijos requer, anualmente, cerca de 8,7 bilhões de litros de leite, o que destaca sua significativa importância, não apenas em termos econômicos, mas também, sociais e culturais. Os queijos estão entre os derivados lácteos mais consumidos nacionalmente (Brasil, 2021; ABIQ, 2022).

A Portaria nº 146, de 7 de março de 1996, classifica os queijos em relação a sua umidade e matéria gorda no extrato seco. Adicionalmente, podem ser classificados como frescos ou maturados, dependendo se estão prontos para consumo imediato após a fabricação ou se requerem um processo de transformações bioquímicas e físicas para adquirir as características específicas da sua variedade. A duração da maturação varia conforme o tipo de queijo e as qualidades desejadas, podendo se estender por meses ou até mesmo anos (Brasil, 1996; Santos *et al*, 2020).

O queijo possui composição complexa devido às diversas reações químicas e bioquímicas que ocorrem desde a produção até o armazenamento, influenciando suas características físicas, sensoriais e químicas, sendo considerado um dos produtos lácteos mais consumidos mundialmente (Zhang *et al.*, 2020).

3.2 Queijos azuis

São mais de 45 variedades de queijos azuis, com características distintas, produzidos em todo o mundo. Destes, os mais conhecidos são os produzidos na Europa (Roquefort, Cabrales, Stilton, Gorgonzola e Danablu), todos com Denominação de Origem Protegida (López-díaz *et al.*, 2023).

No Brasil, a instrução Normativa nº 45, de 23 de outubro de 2007, do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) aprovou o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo Azul, a fim de estabelecer requisitos mínimos de qualidade (Brasil, 2007), definindo-o da seguinte forma:

Entende-se por Queijo azul o produto obtido da coagulação do leite por meio de coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementado ou não pela ação de bactérias lácticas específicas, e mediante um processo de fabricação que utiliza fungos específicos (*Penicillium roqueforti*), complementados ou não pela ação de fungos e/ou leveduras subsidiárias, encarregadas de conferir ao produto características típicas durante os processos de elaboração e maturação (Brasil, 2007).

O queijo azul é um derivado lácteo de coagulação enzimática, caracterizado pela presença do fungo filamentoso *Penicillium roqueforti*, que se desenvolve internamente nas olhaduras mecânicas e biológicas do queijo (Furtado, 2013). Devido à intensa atividade proteolítica e lipolítica do mofo, os queijos azuis adquirem sabor e aroma peculiares que são considerados picante e/ou pungente. A maturação ocorre por períodos que variam entre 30 e 120 dias, em câmaras especiais e com alto teor de umidade relativa no ar (95%) (Furtado, 2013).

O fungo torna-se visível entre 10 a 15 dias após a sua fabricação. Conhecida como fase aeróbica, os furos contidos na massa permitem a troca de gases para um melhor crescimento do mofo, que produz proteases essenciais na formação da textura do queijo. A qualidade final e as propriedades dos queijos azuis maturados dependem, em grande parte, dos sistemas enzimáticos e de compostos bioativos presentes, responsáveis pelas características sensoriais e únicas (Alexa, et al., 2024). Ao ser cortado, os queijos devem conter veias azul-esverdeadas distribuídas por toda a massa (Coton et al., 2020), conforme ilustra a Figura 1.



Figura 1 - Características do queijo azul

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

3.2.1 Histórico dos queijos azuis no Brasil

No início do século XX imigrantes dinamarqueses escolheram a região do sul de Minas Gerais, para a produção de queijos azuis. Mais especificamente, foi em 1924, quando Lief Kai Godtfredsen chegou ao Brasil e trouxe consigo botelhas de um fungo chamado *Penicillium roqueforti*, até então desconhecido pelas fábricas e queijeiros brasileiros. Dessa forma, ele iniciou suas atividades queijeiras na região

sudeste de Minas Gerais e foi no município de Minduri o primeiro queijo de mofo azul brasileiro produzido, sendo nomeado *Roquefort* (Furtado, 2013).

No entanto, o queijo *Roquefort* era tradicionalmente produzido na Europa com leite de ovelha e a primeira fabricação no Brasil foi feita com leite da espécie bovina. Por esse motivo, passou-se então, a nomeá-lo *Gorgonzola*, que é um queijo azul originado no Vale do Pó, na Itália, e produzido exclusivamente com leite bovino. Porém, na década de 1970, devido à denominação protegida por lei, adicionou-se a palavra "tipo" e passou a ser utilizado no Brasil o nome queijo *tipo gorgonzola* (Furtado, 2013).

Mais tarde, em 1990 ficou estabelecido que os países pertencentes ao Mercosul devessem nomeá-lo queijo azul, tornando-se a nomenclatura utilizada atualmente (Furtado, 2013). Em 2017 a produção de queijos azuis no Brasil ultrapassou cinco toneladas (Moreira et al., 2018) e em 2019, já havia chegado a 10 mil toneladas/ano (ABIQ, 2022).

3.2.2 Penicillium roqueforti

O *Penicillium roqueforti* é um fungo filamentoso pertencente ao reino *Fungi*. Existem, aproximadamente, 200 espécies dentro do gênero *Penicillium*. É possível explorar diversos registros de cores, como a cor branca *(Penicillium camemberti)*, o verde azulado, o verde-amarelado, e até mesmo classificá-los de diferentes formas morfológicas e genéticas (Furtado, 2013).

A morfologia caracteriza-se pela estrutura externa no qual um organismo funciona e se adapta ao ambiente, mas alguns aspectos podem variar de acordo com o local. Algumas cepas fúngicas caracterizadas em um laboratório, por exemplo, podem parecer diferentes quando cultivadas no queijo devido às diferenças em relação a nutrientes, temperatura, iluminação ou umidade (Furtado, 2022).

Sua forma estrutural apresenta hifas aéreas septadas que, em conjunto, formam o micélio. Os esporos estão presentes nas extremidades superiores da estrutura do fungo e, à medida que amadurecem, ocorre o desprendimento, e, então, germinam formando novas hifas. A esse ciclo, dá-se o nome de reprodução assexuada (Coton *et al.*, 2020). A Figura 2 apresenta a morfologia do fungo.

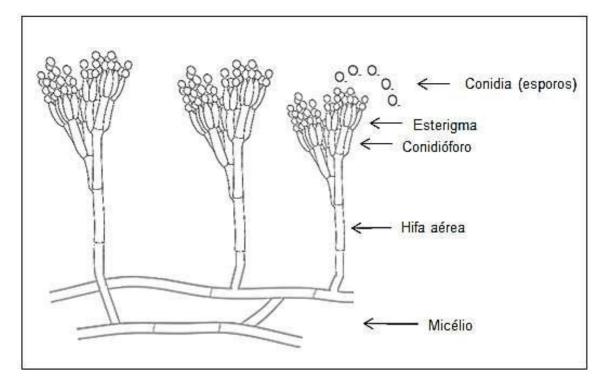


Figura 2 - Morfologia do fungo *Penicillium roqueforti*

Fonte: Adaptado de Coton et al., (2020).

Além disso, o mofo é considerado halotolerante e microaerófilo, ou seja, pode crescer em concentrações de sal mais elevadas (8%), é capaz de germinar lentamente em atmosfera com reduzida quantidade de oxigênio e em meios ácidos, com pH inferior a 4,9 (Furtado, 2013).

3.2.3 Legislação vigente

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos Azuis o classifica como um queijo gordo (45,0 e 59,9% de gordura no extrato seco), de média a alta umidade (36,0% e 54,9%). Já em relação a sua consistência, o queijo deve ser semiduro, com massa quebradiça ou pastosa e a sua textura aberta com o desenvolvimento de mofos distribuídos de forma equilibrada e veias de cor azulada, verde azulada ou verde acinzentado. O sabor deve ser picante e sua casca ao final do período de maturação deve ser rugosa e sem trinca irregular (Brasil, 2007).

Além disso, foram preconizadas características próprias do processo de fabricação, sendo que a coagulação do leite para obtenção da massa deve ser por meio de coalho e/ou outras enzimas coagulantes específicas, podendo ou não

adicionar bactérias lácticas específicas. A massa deverá ser cortada em grãos grandes, agitada sem aquecimento e dessorada somente depois de sua fermentação. Em seguida, deverá ser salgada e maturada à temperatura inferior a 15°C, por, no mínimo, 35 dias. O queijo azul pronto para o consumo deve ser armazenado e conservado durante sua comercialização a uma temperatura inferior a 8°C (Brasil, 2007).

Por fim, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos Azuis estabelece condições para a forma de acondicionamento do produto final, que pode ser feito em embalagens bromatologicamente aptas, de plástico, alumínio ou estanho, com ou sem uso de vácuo (Brasil, 2007).

3.2.4 Tecnologia de fabricação

Segundo Lourenço Neto (2013), os queijos azuis possuem etapas indispensáveis para sua fabricação. Inicialmente, o leite é pasteurizado e padronizado com teor de gordura entre 4,0% e 4,2% (m/v). Posteriormente, utiliza-se a cultura iniciadora acidificante mesofílica, a uma temperatura de, aproximadamente, 32°C. O leite adicionado de cultura iniciadora é pré-maturado no tanque de fabricação durante trinta minutos antes da adição do coagulante, com o objetivo de aumentar a acidez inicial. Em seguida, o fungo *Penicillium roqueforti* é adicionado ao leite, além do cloreto de cálcio e do coagulante.

A coagulação ocorre entre 30 e 40 minutos resultando em um gel liso e firme, que é cortado, por meio do uso de liras, em cubos (grãos) de 3 cm a 4 cm de aresta. Após o corte, é feito o repouso da massa por cerca de 5 minutos. A seguir, realizase uma mexedura lenta de, aproximadamente, 60 minutos até a obtenção do ponto da massa, com grãos enxutos. Posteriormente, é feita a drenagem do soro e a salga na massa. A massa é enformada em formas plásticas de funda perfurada, e submetida a viragens nas primeiras horas. Para que a etapa de fermentação seja eficiente, a temperatura ambiente deve ser de 20 °C a 25 °C, assim, o pH do queijo será de 4,7 a 4,8 em, aproximadamente, 24 horas.

Após a fermentação até pH 4,8, os queijos são salgados em salga a seco, onde o sal é espalhado na face superior e lateral do queijo. No dia seguinte, repetese a operação, salgando-se novamente as faces do queijo. Posteriormente, os

queijos passam por um banho de natamicina (0,2%) com o intuito de inibir o crescimento do mofo na superfície do queijo. Após 24 horas, os queijos são furados e levados para maturação em câmaras frias exclusivas, seu período de maturação pode variar de 35 a 60 dias.

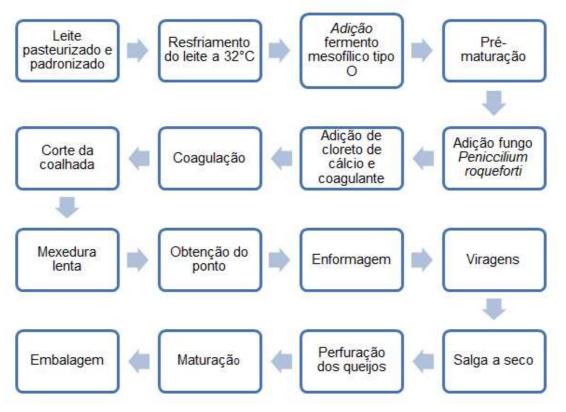


Figura 3 - Fluxograma da tecnologia de fabricação do queijo

Fonte: Adaptado de Lourenço Neto (2013).

3.2.5 Maturação

Os queijos possuem condições ideais para que diversas reações físico-químicas e bioquímicas ocorram, desde sua produção até o armazenamento, sendo considerado um dos produtos lácteos mais consumidos mundialmente (Zhang *et al.,* 2020). A maturação dos queijos azuis envolve um conjunto de mudanças microbiológicas e bioquímicas, as quais são influenciadas pelo ambiente e pelo tipo de microbiota presente, tornando-os mais saborosos ao paladar. É uma etapa essencial para o desenvolvimento de características no produto final. Os aminoácidos degradados, provenientes das reações proteolíticas, proporcionam sabor, aroma, elasticidade, derretimento e propriedades emulsificantes ao produto

(Fox; Guinee, 2004). As alterações bioquímicas que ocorrem durante esta fase podem ser categorizadas em dois eventos distintos: as modificações primárias, que envolvem a degradação da caseína em peptídeos e aminoácidos, a lipólise, resultando na liberação de ácidos graxos livres e glicerol, e a degradação da lactose e do citrato; e as modificações secundárias, que se caracterizam pelo desenvolvimento de uma variedade de compostos voláteis, devido ao metabolismo dos aminoácidos e ácidos graxos. A Tabela 2 apresenta algumas reações e compostos formados durante a maturação de queijos.

Tabela 1 - Algumas reações e compostos formados durante a maturação de queijos

Constituinte do leite	Proteína (Caseína)	Lactose (Glicose +Galactose)	Gordura (Triacilglicerol)
Reação	Proteólise	Glicólise	Lipólise
	Peptideos grandes	Ácido lático	Diacilglicerol
	Peptideos pequenos	Ácido acético	Monoacilglicerol
Alguns compostos gerados	Aminoácidos	CO ₂	Ácido graxo
	Aminas		Glicerol

Fonte: Adaptado de Silva e Marques (2022).

Durante a maturação do queijo, a caseína é degradada, o que leva ao acúmulo de aminoácidos livres, que podem ser convertidos em uma série de substâncias ativas sensoriais, que variam de acordo com a microbiota presente (Silva; Marques, 2022).

3.2.6 Proteólise

Dentre as vias metabólicas que ocorrem no processo de maturação dos queijos, a proteólise se destaca como a mais complexa, devido ao envolvimento em diversas reações químicas e enzimáticas essenciais para o desenvolvimento do sabor e aceitação desses produtos. Além disso, a proteólise é responsável pela liberação de peptídeos curtos que contribuem para a formação de sabores básicos importantes. Entre os principais contribuintes para a percepção do gosto umami, por

exemplo, descoberto há mais de um século no Japão, estão os sais de ácido glutâmico e uma vasta gama de aminoácidos resultantes da proteólise da caseína (Kincheski *et al.*, 2023).

A proteólise corresponde à hidrólise das proteínas e é resultante de várias atividades enzimáticas de proteinases e peptidases (Lourenço Neto, 2013). Essas modificações envolvem, principalmente, a ação de enzimas produzidas por diferentes microrganismos, mas também são resultantes das atividades enzimáticas provenientes da ação do coalho/coagulante, do fermento lático e de enzimas naturais do leite. Nesta etapa há um aumento na liberação de compostos, formação de amônia e alterações de textura. Os peptídeos de alta, média e baixa massa molecular, liberados durante a proteólise, são quantificados por análise de nitrogênio e pelo cálculo de extensão e profundidade da proteólise (Pombo; Lima, 1989; Perry, 2004).

Os pequenos peptídeos e aminoácidos liberados atuam como substratos em uma variedade complexa de reações, que resultam em compostos responsáveis pelo aroma e sabor (Mcsweeney, 2004). Eles contribuem para um sabor agradável nos queijos e influenciam diretamente no gosto, uma vez que certos aminoácidos possuem qualidades de gosto doce, ácido ou amargo, como, por exemplo, os aminoácidos, glicina, serina e prolina que proporcionam o gosto doce e a lisina, fenilalamina e o triptofano, o gosto amargo. Os queijos azuis têm seu sabor caracterizado pela forte proporção de ácidos graxos livres, metilcetonas e álcoois secundários (Lourenço Neto, 2013). Entre os sistemas enzimáticos ativos, pode-se destacar as descarboxilases, que durante a maturação podem dar origem à formação de aminas, com um pH ótimo de ação próximo a 5,0 (Lourenço Neto, 2013). Vale ressaltar que algumas aminas, em particular, desempenham um papel importante na caracterização de queijos maturados (McSweeney, 2011), e algumas delas podem até ser indesejáveis, como, por exemplo, as diaminas putrescina e cadaverina que em meio aquoso, exibem um sabor pútrido intenso e são indicativos de contaminação (Glória, 2006).

3.3 Aminas bioativas

3.3.1 Definição e classificação

As aminas bioativas são compostos nitrogenados em que um, dois ou três átomos de hidrogênio da amônia foram substituídos por grupos alquila ou arila. São bases orgânicas alifáticas, alicíclicas ou heterocíclicas de baixa massa molecular. Estas substâncias são formadas por meio de processos bioquímicos e estão presentes em diversos alimentos, principalmente, em produtos fermentados como os queijos azuis. Em baixas concentrações, são fundamentais para o corpo humano, atuam no metabolismo celular e cumprem papeis fisiológicos importantes (Guarcello, 2014; Amaral, 2022).

Esses compostos são sintetizados e degradados como parte das atividades metabólicas normais em humanos, animais, vegetais e microrganismos (Barone *et al.*, 2018). As aminas bioativas podem receber diferentes classificações, porém, a mais comum está relacionada à função que desempenham, sendo divididas em poliaminas e aminas biogênicas (Mayer *et al.*, 2009). A Figura 4 apresenta a classificação das aminas bioativas conforme algumas funções que desempenham.

Figura 4 - Classificação das aminas bioativas conforme algumas funções que desempenham

POLIAMINAS	Espermidina e espermina: Possuem atividade moduladora e promotora do crescimento celular, auxiliam na síntese de DNA, RNA, proteínas e podem atuar como antioxidantes.
AMINAS BIOGÊNICAS	Tiramina, putrescina, cadaverina, histamina, serotonina triptamina, agmatina e feniletilamina: Possuem propriedades neuroativas e vasoativas, devido aos seus efeitos no sistema neural e vascular.

Fonte: Adaptado de Mayer et al., (2009).

3.3.2 Aminas biogênicas

As aminas biogênicas são geradas por meio de reações de descarboxilação, mediadas por descarboxilases bacterianas, sendo esta a principal via de formação de aminas nos alimentos (histamina, serotonina, tiramina, triptamina, putrescina, cadaveina agmatina) (Shalaby, 1996; Gloria, 2005, Mayer *et al.*, 2009).

Os microrganismos com atividade aminoácidos-descarboxilase liberam enzimas, como estratégia de sobrevivência em resposta às condições adversas do meio no qual estão inseridos, o que resulta na formação de aminas biogênicas (Kandasamy *et al.*, 2021; Amaral, 2022). A Figura 5 apresenta a Reação de formação de aminas por descarboxilação de aminoácido

Figura 5 - Reação de formação de aminas por descarboxilação de aminoácido

Fonte: Adaptado de Benkerroum (2016).

Além da presença de microrganismos, a formação de aminas biogênicas está condicionada à disponibilidade de aminoácidos livres, às condições favoráveis para o desenvolvimento bacteriano e a ação de enzimas descarboxilantes (Benkerroum, 2016).

As aminas biogênicas podem ser produzidas em alimentos em concentrações mais elevadas pela atividade de microrganismos contaminantes como a *Escherichia, Enterobacter, Salmonella, Shigella* e bactérias lácticas iniciadoras ou não iniciadoras (*Streptococcus, Lactobacillus, Lactocococus, Leuconostoc*) (Chong *et al.*, 2011).

De acordo com Pagthinathan e Nafees (2015), a descarboxilação de aminoácidos pode resultar no aumento do pH do queijo durante o processo de maturação, além da formação de aminas como cadaverina e putrescina, que contribuem para um odor putrefativo pronunciado, impactando negativamente a qualidade do queijo. Essa ocorrência está sujeita à disponibilidade do aminoácido precursor, à composição da microbiota, ao tempo e à temperatura de maturação, bem como à concentração de sal no queijo.

3.3.3 Toxicidade

No organismo humano, as aminas exógenas, provenientes de alimentos como os queijos, são prontamente metabolizadas por meio de conjugação ou de reações de oxidação, catalisadas por enzimas amino oxidases, tais como monoamino oxidases (MAO), diamino oxidases (DAO) e poliamino oxidases (PAO) (Kandasamy, 2021). No entanto, em indivíduos que utilizam medicamentos com inibidores de monoamino oxidases (IMAO) para o tratamento de transtornos mentais e depressão, a ação de degradação de determinados compostos não ocorre. Assim, devido à importância da MAO na degradação das aminas biogênicas, essas pessoas devem se manter atentas ao consumo de determinados alimentos fermentados, visto que o consumo recomendado de tiramina, nesses casos, é de 6 mg por refeição por pessoa (EFSA, 2011).

O consumo de algumas aminas em concentrações elevadas pode causar efeitos adversos à saúde humana, como enxaquecas, hipertensão e reações alérgicas. A histamina pode causar uma reação toxicológica, estimulando diretamente o coração como resultado do seu efeito na liberação de adrenalina e noradrenalina. As aminas cadaverina e putrescina estão relacionadas com a perda de qualidade do alimento, pela degradação dos aminoácidos precursores (em especial a lisina, que é um aminoácido essencial), e são indicadores de deterioração ou contaminação (Glória, 2006).

As aminas histamina e a serotonina são exemplos de aminas psicoativas, e exercem funções como neurotransmissores no sistema nervoso central. As aminas vasoativas, por sua vez, influenciam diretamente ou indiretamente no sistema vascular, podendo manifestar-se como vasoconstritoras (pressoras) ou vasodilatadoras (Mayer *et al.*, 2009).

A tiramina, a feniletilamina e a triptamina podem provocar um aumento na pressão sanguínea por meio da constrição do sistema vascular e do incremento na velocidade e força da contração cardíaca. Já a histamina induz a vasodilatação periférica, resultando na redução da pressão sanguínea, aumento da contração e velocidade do batimento cardíaco, além de desempenhar papéis na contração e relaxamento do músculo liso, agindo como estimulante dos neurônios nos sistemas motor e sensorial (Stratton *et al.*, 1991; Gloria, 2006).

A European Food Safety Authority (EFSA) coletou, aproximadamente, 36 mil resultados analíticos relacionados à ingestão de alimentos fermentados por indivíduos saudáveis, com concentrações elevadas de aminas biogênicas. Não foram observados efeitos adversos à saúde após a exposição aos níveis de 25 a 50 mg de histamina, porém, em indivíduos com intolerância á histamina, apenas níveis abaixo dos limites de detecção podem ser considerados seguros e 600 mg de tiramina, por pessoa e por refeição (EFSA,2011; Moniente et al., 2020).

Kandasamy *et al.* (2021) apontou a presença das aminas biogênicas histamina (9,66 - 111,18 mg/kg) e tiramina (59,34 - 70,77 mg/kg) em queijo cheddar maturado. Esses resultados tornam-se um ponto de atenção para aqueles indivíduos que utilizam IMAO, visto que o consumo recomendado de tiramina, nesses casos, é de até 6 mg por refeição por pessoa e 25 a 50 mg de histamina para indivíduos saudáveis (EFSA, 2011).

Amaral (2022) relatou a escassez de trabalhos realizados com esse tema no Brasil e ressaltou a importância de pesquisas voltadas para um melhor controle os fatores que influenciam na presença dessas substâncias em queijos maturados, como o pH, concentrações de cloreto de sódio e temperatura. Diversos autores destacaram a importância de se identificar possíveis alternativas que levem a um maior controle e a determinação de limites para formação de aminas bioativas em queijos (Omer *et al.*, 2021; Dabadé *et al.*, 2021; Silva; Marques, 2022; Kandasamy, 2021).

Países como Canadá, Austrália, Nova Zelândia e Finlândia possuem limites de consumo de aminas biogênicas apenas para peixes ou produtos embutidos. A República da Eslováquia se destacou por apresentar recentemente um limite de 200 mg/kg para tiramina em queijos (Saha; Chung; MCintyre, 2024).

No Brasil, não há normatização dos teores de aminas bioativas em queijos. A legislação existente aborda apenas a histamina em peixes frescos, congelados e em conserva, das famílias *Carangidae*, *Gempylidae*, *Istiophoridae*, *Scombridae*, *Scombresocidae*, *Engraulidae*, *Clupeidae*, *Coryphaenidae* e *Pomatomidae*, com um limite máximo de 100 mg/kg para a média de nove unidades amostrais e 200 mg/kg para uma amostra individual (Brasil, 1997; Brasil, 2017). Portanto, torna-se fundamental o conhecimento dessas substâncias presentes nos queijos comercializados no Brasil, a fim de evitar problemas à saúde dos consumidores,

além de estabelecer padrões regulatórios específicos para este produto (Benkerroum, 2016).

3.4 Embalagem

A escolha de um determinado tipo de embalagem é fundamentada em requisitos essenciais de proteção ao alimento acondicionado. Por outro lado, os aspectos econômicos e mercadológicos devem ser levados em consideração, visto que a qualidade e vida de prateleira de queijos estão relacionadas a diversos fatores como a qualidade microbiológica do leite, as condições tecnológicas e higiênicosanitárias de fabricação, a temperatura de armazenamento e o emprego de um sistema de embalagem adequado (Jorge, 2013).

As embalagens tradicionais exercem a função de conter, proteger, comunicar e conferir conveniência, com o mínimo de interação possível com o queijo que condicionam, constituindo, assim, uma barreira inerte (Leão *et al.*, 2020). O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos Azuis estabelece condições para a forma de acondicionamento do produto, que pode ser feito em embalagens bromatologicamente aptas, de plástico, alumínio ou estanho, com ou sem uso de vácuo (Brasil, 2007).

Entre as diferentes opções oferecidas pelo mercado, as embalagens sem vácuo, como a folha de alumínio, são tradicionalmente utilizadas em queijos mofados. Esta é uma opção que proporciona uma barreira ao oxigênio e protege o produto da perda de umidade e de uma possível contaminação indesejada. O oxigênio do espaço livre é reduzido, uma vez que o alumínio se ajusta a superfície do queijo. A embalagem de alumínio é composta também por uma camada de poliéster a fim de protegê-lo e impedir perfurações (Jorge, 2013).

Por outro lado, as embalagens a vácuo foram projetadas para eliminar o ar do ambiente interno, prevenindo, assim, o desenvolvimento de microrganismos deteriorantes, a oxidação e a descoloração do produto. Nesse processo, o oxigênio remanescente é consumido pela microbiota aeróbica naturalmente presente, resultando na produção de dióxido de carbono e na criação de um ambiente com potencial redox negativo. Essa modificação no potencial redox e na composição da atmosfera da embalagem atua como um inibidor do crescimento de bactérias aeróbicas deteriorantes, que, em condições normais, seriam responsáveis por

problemas como ranço, proteólise intensificada, fator este que pode levar a uma maior formação de aminas (Genigeorgis, 1985).

Em queijos azuis, microrganismos e leveduras podem desenvolver-se de diferentes formas, em função do tipo de embalagem, em papel alumínio (embalagem tradicional) ou a vácuo. Portanto, é importante verificar o impacto do armazenamento dos queijos em diferentes embalagens nas características bioquímicas do produto (Duval *et al.*, 2018). Segundo Saha; Chung; Macintyre (2024), a formação de aminas bioativas pode ser reduzida por meio da utilização de invólucro adequado, como embalagens a vácuo ou de atmosfera modificada.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Localização

A produção do queijo azul foi realizada nas instalações da fábrica-escola da EPAMIG Instituto de Laticínios Cândido Tostes em Juiz de Fora – MG. As análises físico-químicas e o perfil de textura foram conduzidos no laboratório de físico-química da EPAMIG Instituto de Laticínios Cândido Tostes em Juiz de Fora - MG. A análise do perfil de aminas foi realizada no departamento de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) em Belo Horizonte.

4.2 Fabricação dos queijos e desenho experimental

O queijo azul foi fabricado conforme a tecnologia de fabricação descrita em Lourenço Neto (2013). Para o experimento foram realizadas três repetições. Em cada repetição foi utilizado 200 litros de leite padronizado (4,0% m/v) e pasteurizado (72-75°C/ 15 a 20 segundos). Após a pasteurização, o leite foi resfriado a uma temperatura de 32°C e enviado para o tanque de fabricação onde foi adicionada a cultura iniciadora mesofílica aromática (CHN-22/ Lote: 3594089/ Chr. Hansen), composta por *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris Leuconostoc pseudomesenteroides*. O leite adicionado de cultura iniciadora foi pré-maturado no tanque de fabricação durante trinta minutos, com o objetivo de aumentar a acidez inicial. Em seguida o fungo *Penicillium roqueforti* líquido (SACCO-PRN) foi adicionado ao leite, assim como cloreto de cálcio (Macalé/ Lote: 0088221) e por último o coagulante (Vivare), conforme a dose recomendada pelo fabricante.

A coagulação do leite ocorreu entre 30 e 40 minutos o que resultou em um gel liso e firme que foi cortado, por meio do uso de liras, em cubos (grãos) de 3 cm a 4 cm de aresta. Após o corte, foi feito o repouso da massa por cerca de 5 minutos. A seguir, realizou-se uma mexedura lenta de, aproximadamente, 60 minutos até a obtenção do ponto da massa, com grãos enxutos. Posteriormente, foi feita a drenagem do soro e a salga na massa (0,3% em relação ao volume inicial de leite). A massa foi enformada em formas plásticas de fundo perfurado, e posteriormente

submetida a quatro viragens nas primeiras horas. A fermentação do queijo foi realizada em temperatura ambiente por 24 horas e a acidez titulável do soro foi verificada até atingir 100°Dornic.

Após a fermentação, os queijos foram salgados por dois dias seguidos com salga a seco (0,1% em relação ao volume inicial de leite), onde o sal foi espalhado na face superior e lateral do queijo. No dia seguinte, os queijos passaram por um banho de natamicina (0,2%) com o intuito de inibir o crescimento do mofo na superfície do queijo. Após 24 horas, os queijos foram perfurados e levados para maturação em câmara fria exclusiva (12°C/ 95%URA), em microambiente coberto com plástico durante 14 dias até o crescimento do fungo *Penicillium roqueforit*.

Por fim, os queijos produzidos foram fracionados e embalados em dois tipos de embalagens (plástica a vácuo e alumínio) e direcionados para incubadoras onde foram maturados a 12°C e analisados em diferentes tempos de maturação (1; 15; 30; 45; 60 dias), conforme ilustrado na Figura 6.

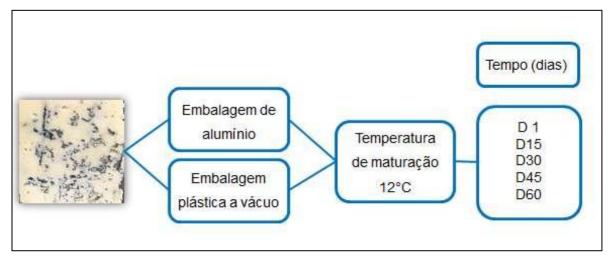


Figura 6 - Desenho experimental

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Nos tempos de estocagem refrigerada (1, 15, 30, 45, 60 dias após o crescimento do fungo *Penicillum roqueforti*) foram coletados aleatoriamente 1 exemplar de cada embalagem. A Figura 7 ilustra os queijos embalados.



Figura 7 - Queijos azuis embalados com papel alumínio e plástico a vácuo

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

4.3 Análises físico-químicas

O preparo de amostras foi realizado com cortes de frações proporcionais a todas as partes do queijo, seguido de homogeneização em processador de alimentos com 250 W de potência (Philco PH900) (AOAC 970.30, 2012). As análises foram realizadas em duplicata.

O teor de sólidos totais (% m/m EST) foi obtido por método gravimétrico em estufa a 105±2°C (IDF 4, 2004) e a porcentagem de umidade pela diferença 100 - %EST. O teor de gordura (% m/m) foi obtido pelo método butirométrico de Van Gulik com butirômetro calibrado (IDF 221, 2008). Para análise de atividade de água foi utilizado o analisador de atividade de água Aqualab Decagon®, de acordo com os procedimentos indicados pelo fabricante. A medida do pH foi feita por meio de leitura em medidor de pH calibrado. O teor de cloretos (expresso em % m/m NaCl) foi obtido pelo método de Volhard, por reação com nitrato de prata e titulação "pelo resto" com tiocianato de potássio (Costa Júnior, 2020). As cinzas ou resíduo mineral fixo (RMF) foram obtidas por incineração em mufla a 550°C (Costa Júnior, 2020).

Teores percentuais de nitrogênio total (%NT), nitrogênio solúvel em pH 4,6 (%NSpH4,6) e nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético 12% - (%NSTCA12%) foram obtidos pelo método de Kjeldahl, conforme descrito em Costa Júnior (2020). Para os cálculos de índices de proteólise - % extensão (%NSpH4,6×100/%NT) e % profundidade (%NS TCA12%×100/%NT) de proteólise (IDF 337, 1998) – e de proteína total, usando o fator de conversão de nitrogênio em proteína de 6,38 (AOAC 920.123, 2012). O percentual de gordura no extrato seco (%GES) foi

calculado pela relação %Gd×100/%EST.

4.4 Análise perfil de textura

A análise de perfil de textura (TPA) das amostras de queijo foi conduzida conforme metodologia utilizada por Sobral *et al.* (2016) no equipamento Texturômetro CT3, Textura Analyzer (Brookfield, Middleboro, USA) (Figura 8). As velocidades utilizadas foram de 1 mm/s, com distância de compressão de 30% a partir da parte superior da amostra. Foi utilizada sonda cilíndrica (TA 2/1000) de 50,8 mm de diâmetro, célula de carga de 4,5 kg e *trigger point* de 0,05 N. Amostras cúbicas (2 cm³) foram coletadas aleatoriamente em 8 partes do queijo para cada determinação.



Figura 8 - Análise de textura em amostra de queijo azul

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

4.5 Análises do perfil de aminas bioativas

4.5.1 Extração de aminas bioativas

A extração de aminas bioativas foi baseada no método descrito por Silva e Gloria (2002). As aminas foram extraídas de 5 g de amostras de queijo em 25 mL de

ácido tricloroacético 5% m/v. A mistura foi submetida à centrifugação a 280 rpm por 5 minutos. Os sobrenadantes foram *coletados* e filtrados (seringa + porta-filtro *swinnex* + membrana de éster de celulose) em vials de 1,5 mL imediatamente antes da análise por HPLC-FL.

4.5.2 Condições cromatográficas

O aparelho utilizado foi um cromatógrafo líquido de alta eficiência (HPLC) Shimadzu LC-20AD Prominence (Shimadzu, Kyoto, Japão) equipado com três bombas (Shimadzu LC-20AD) um sistema de desvio pós-coluna consistindo em uma câmara de mistura de baixa pressão com volume morto zero, instalada entre a saída da coluna e o detector e um tubo de Teflon protegido da luz, conectado entre a câmara de mistura e o detector espectrofluorimétrico (Shimadzu RF-10AXL). Uma coluna Luna C18 Phenomenex (4,6 x 250 mm, 5 µm) e uma pré-coluna C18 (4x3 mm) foram usadas em um forno (CTO-10 ASvp, Shimadzu, Kyoto, Japão) a 30 °C. Faz parte do sistema ainda, um auto injetor (SIL-20AHT), com capacidade de 105 vials de 1,5 mL e uma unidade de controle de interface HPLC (CBM-20A).

As fases móveis utilizadas foram: A) solução de 0,2 M de acetato de sódio e 15 mM de sal de sódio de ácido octano sulfônico, pH ajustado para 4,9 com ácido acético; e B) acetonitrila. O gradiente utilizado foi: 0,01 a 17,99 min/ 2% B; 18,00 a 18,99 min/ 20% B; 19,00 a 39,99 min/ 5% B; 40,00 a 49,99 min/ 23% B; 50,00 a 50,49 min/ 35% B; 50,50 a 60,00 min/ 2% B. O reagente de derivação pós-coluna, administrado a 0,3 mL/min, consistiu em 1,5 mL de Brij-35, 1,5 mL de β-mercaptoetanol e 0,2 g de OPA dissolvidos em 500 mL de solução de 25 g de ácido bórico e 22 g de KOH (pH ajustado para 10,5 com 3% de KOH). A reação pós-coluna ocorreu a 30 °C. O detector de fluorescência foi ajustado para excitação de 340 nm e emissão de 450 nm.O tempo total de execução da corrida cromatográfica foi de 60 minutos por amostra.

A identificação das aminas foi realizada pela comparação do tempo de retenção dos picos do analito nas amostras de queijo com aqueles da solução padrão. As concentrações do analito foram calculadas por interpolação nas respectivas curvas analíticas externas.

4.6 Análises estatísticas

Os resultados foram avaliados quanto ao ajuste à distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk (P>0,05). Para os dados paramétricos foi realizada a análise de variância (ANOVA fator duplo com repetição) e teste de Tukey (P<0,05), enquanto para os dados não paramétricos foi usado o teste de Kruskal-Wallis e teste de Dunn (P>0,05). Para dados que variaram com o tempo de maturação foi feito o teste de significância da regressão linear (P>0,05). Foi utilizado o programa estatístico XLSTAT Premium versão 2024.4.1.1425 (64 bits).

Foi realizada a análise multivariada dos dados obtidos para caracterização dos queijos azuis durante sua maturação utilizando a técnica de análise de componentes principais (PCA). Para a PCA foram usadas como variáveis ativas todos os parâmetros físico-químicos, de textura e teores de aminas bioativas para a determinação dos componentes principais, sendo as observações ativas (tempo de maturação e tipo de embalagem) projetadas no plano fatorial. A PCA foi conduzida com padronização das variáveis usando matriz de correlação de Pearson.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Efeito do tipo de embalagem e do tempo de maturação nas propriedades físico-químicas e perfil de textura dos queijos azuis

5.1.1 Composição centesimal

A Tabela 2 apresenta a composição centesimal (média ± desvio padrão) dos queijos azuis embalados em alumínio e em embalagem plástica a vácuo. Para os parâmetros físico-químicos de umidade, gordura, proteína, resíduo mineral fixo (RMF) e cloreto de sódio não foi encontrado diferença significativa entre as médias (P>0,05) em relação ao tempo de maturação e entre a embalagem de alumínio e a plástica a vácuo.

A partir dos teores médios de umidade dos queijos azuis $(39,63 \pm 2,69\% \text{ m/m})$ para os queijos embalados em alumínios e $39,46 \pm 2,74\% \text{ m/m}$ para os embalados em plástico a vácuo) apresentados foi possível classificar os queijos azuis analisados como de média umidade.

Para o teor de gordura no extrato seco dos queijos não houve diferença no tempo e entre as embalagens pelo teste de Tukey (P>0,05). A média encontrada para os queijos azuis na embalagem de alumínio foi de 53,06 ± 2,83% m/m e para embalagem plástica a vácuo de 51,8 ± 2,34% m/m. As médias encontradas para ambas as embalagens os classificam como queijo gordo (Brasil, 1996). Nesse sentido, os queijos atenderam ao percentual exigido pela legislação e encontraramse de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos Azuis (Brasil, 2007).

Resultados aproximados dos parâmetros de umidade ($45,61 \pm 0,19\%$), GES ($53,93\pm 2,03\%$) e proteína ($22,53 \pm 3,53\%$) foram encontrados por Moreira *et al.* (2018) em queijos azuis.

Em queijos azuis o teor de sal pode variar entre 2,5% e 3,0%. Seu maior teor favorece o desenvolvimento do mofo azul e um maior controle das atividades enzimáticas ao longo da maturação (Furtado, 2013).

Tabela 2 - Composição centesimal (média ± desvio padrão) dos queijos azuis embalados em alumínio e em embalagem plástica à vácuo

Tempo (dias)*	Umidade (%m/m)		Gordura (%m/m)		Proteína (%m/m)		RMF (%m/m)**		NaCl (%m/m)	
	Alumínio	Plástico	Alumínio	Plástico	Alumínio	Plástico	Alumínio	Plástico	Alumínio	Plástico
1	38,28±1,00	38,28±1,00	32,17±1,26	32,17±1,26	22,33±0,04	22,33±0,04	4,62±0,41	4,62±0,41	2,13±0,20	2,13±0,20
15	42,17±0,52	41,81±3,13	32,62±1,84	31,62±1,12	21,05±1,36	21,19±1,5	4,35±0,19	4,78±0,39	2,42±0,33	3,46±1,09
30	37,79±4,68	38,82±1,53	31,67±2,36	31,00±1,73	21,39±0,39	21,59±1,12	4,61±0,52	4,60±0,20	2,31±0,61	2,33±0,16
45	40,6±0,85	40,33±3,88	31,33±1,04	30,50±0,50	20,18±2,17	21,31±0,49	4,67±0,13	4,81±0,26	2,51±0,28	2,49±0,41
60	39,33±2,77	38,09±3,05	32,17±1,26	31,33±1,76	21,51±2,41	22,97±1,59	4,51±0,05	4,67±0,40	3,14±1,74	2,56±0,68
Média	39,63±2,69	39,46±2,74	31,99±1,45	31,32±1,28	21,29±1,52	21,88±1,18	4,55±0,29	4,69±0,30	2,5±0,80	2,59±0,70

^{*}Tempo de maturação contado a partir do início do crescimento da cultura de *Penicillium roqueforti*, 14 dias após o furo dos queijos. **RMF = resíduo mineral fixo.

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

5.1.2 pH e atividade de água

Para os valores de pH não houve diferença no tempo de maturação para os queijos embalados em plástico (P>0,05), mas houve para os embalados em alumínio, sendo que o pH dos queijos embalados em alumínio no último tempo de maturação foi significativamente maior que o do primeiro tempo (P<0,05). Em média, os queijos embalados em alumínio tiveram o pH maior que os embalados em plástico a vácuo (P<0,05).

Tabela 3 - Valores de pH (média ± desvio padrão) dos queijos azuis embalados em alumínio e em embalagem plástica a vácuo

Tompo (digo) *	рН					
Tempo (dias) * -	Alumínio	Plástico				
1	5,30±0,16 ^b	5,30±0,16 ^a				
15	5,93±0,75 ^{ab}	5,40±0,41 ^a				
30	6,55±0,14 ^{ab}	5,52±0,37 ^a				
45	6,43±0,61 ^{ab}	5,38±0,33 ^a				
60	6,87±0,05 ^a	5,28±0,34 ^a				
Média	6,22±0,68 ^A	5,38±0,29 ^B				

^{*}Tempo de maturação contado a partir do início do crescimento da cultura de *Penicillium roqueforti*, 14 dias após o furo dos queijos. Letras maiúsculas iguais em uma mesma linha e minúsculas iguais em uma mesma coluna indicam que não há diferença entre as médias pelo teste de Dunn (P>0,05).

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Sousa e colaboradores (2014) consideram o parâmetro pH de grande importância pois está relacionado a atividade enzimática e a maturação de queijos. Em queijos azuis espera-se que ocorra uma elevação de pH devido ao crescimento do mofo, pois ele utiliza o ácido lático em seu metabolismo. Durante o desenvolvimento, os fungos filamentosos provocam a desacidificação da superfície do queijo e permitem a multiplicação de bactérias e o aumento de sua atividade enzimática (Furtado, 2013).

Na variável embalagem plástica pode-se observar médias mais baixas para o pH. Embora não haja padrão estabelecido para pH de queijos azuis, em aproximadamente 35 dias observa-se que o pH de queijos azuis estejam entre 5,4 e

5,8 e por volta de 70 dias entre 6,1 e 7,0. Isso pode ser explicado devido à proteólise, que ao longo do tempo libera compostos básicos, e devido ao consumo do ácido lático pelo fungo filamentoso (Furtado, 2013).

No entanto, sabe-se que a embalagem plástica a vácuo permite a retirada de oxigênio o que resulta na criação de um ambiente com potencial redox negativo. Essa modificação no potencial redox e na composição da atmosfera da embalagem altera o desenvolvimento de microrganismos, o que pode desfavorecer a multiplicação de bactérias ácido-láticas e retardar a proteólise dos queijos (Silva, 2016). Por outro lado, a embalagem de alumínio apesar de ser composta por uma camada de poliéster, permite a passagem de oxigênio e isso pode favorecer as reações bioquímicas e enzimáticas e a elevação gradual do pH ao longo do tempo de maturação, principalmente na casca (Furtado, 2013).

Duval et al. (2016) avaliaram o efeito de diferentes embalagens (plástica a vácuo, alumínio e filme extensível) na microbiota de queijos azuis e observaram que o pH dos queijos embalados a vácuo foi mais baixo quando comparado aos queijos azuis embalados em folha de alumínio e filme extensível.

O aumento do pH apesar de ser esperado em queijos azuis é um fator crítico na maturação de queijos, pois microrganismos como a *Brevibacterium linens*, podem iniciar sua multiplicação em valores entre 5,6 (Furtado,2007) e 5,8 (Fox,1993). Dessa forma, a composição da casca pode ter sido diferente em cada tratamento, levando à alteração do pH médio das amostras. Nas Figuras 9 e 10 podem ser observadas cunhas das amostras de queijos azuis aos 30 dias de maturação embaladas no alumínio e plástico a vácuo, respectivamente, após serem desembalados para análise.

Figura 9 - Queijos azuis que foram embalados no alumínio com 30 dias de maturação após o crescimento do fungo filamentoso



Fonte: Elaborado pela autora (2024)

Figura 10 - Queijos azuis embalados com embalagem plástica a vácuo com 30 dias de maturação após o crescimento do mofo



Fonte: Elaborado pela autora (2024)

O aparecimento de manchas róseas ou alaranjadas pode estar relacionado à presença de microrganismos não patógenos de gêneros como *Micrococci, Brevibacterium linens, Propionibacterium rubrum, Staphylococci*, que podem causar alterações nos queijos durante a maturação ao desenvolverem-se na superfície do queijo. Além da alteração na coloração, a casca pode ficar com aspecto melado, pegajoso e com forte odor (Sobral *et al.*, 2017).

Em relação à atividade de água (Aw) não houve diferença significativa entre os queijos na embalagem de alumínio (0,926± 0,017) e na embalagem de plástico à vácuo (0,921 ± 0,016) e ao longo do tempo de maturação (P>0,05).

A atividade de água representa a água disponível para reações químicas, enzimáticas e para o desenvolvimento de microrganismos no alimento. Produtos com maiores valores de atividade de água possuem soluções diluídas que servem de substrato para o crescimento de microrganismos, sendo que valores de atividade de água acima de 0,91 favorecem o desenvolvimento de microrganismos (Fox; Guinee, 2004). Nesse sentido, pode-se observar que os valores médios encontrados no estudo estão acima da faixa ótima para desenvolvimento de diversos microrganismos.

5.1.3 Índices de extensão e profundidade

Em relação aos índices de proteólise dos queijos, não foi observada influência do tipo de embalagem (P>0,05). Na embalagem alumínio, a alteração da extensão e da profundidade dos queijos ao longo da maturação não foi significativa (P>0,05), enquanto na embalagem plástica, o tempo de maturação levou a um aumento dos índices de proteólise (P<0,05) dos queijos, como pode ser observado na Tabela 4.

Tabela 4 - Extensão e profundidade da proteólise (média ± desvio padrão) dos queijos azuis embalados em alumínio e em embalagem plástica a vácuo

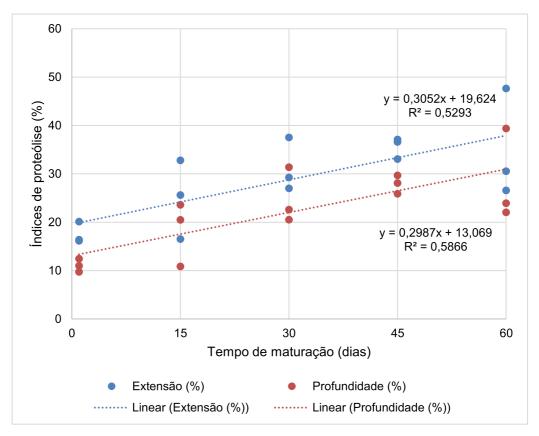
T (-1:)*	Extens	são (%)	Profundidade (%)			
Tempo (dias)*	Alumínio	Plástico	Alumínio	Plástico		
1	17,54±2,24 ^a	17,54±2,24 ^b	11,03±1,36 ^a	11,03±1,36 ^b		
15	27,18±9,33 ^a	22,74±7,24 ^{ab}	17,79±8,37 ^a	18,81±4,99 ^{ab}		
30	35,23±5,79 ^a	27,25±6,58 ^{ab}	26,95±4,53 ^a	22,66±8,14 ^{ab}		
45	36,27±3,05 ^a	34,86±5,05 ^a	27,39±6,60 ^a	28,36±3,06 ^a		
60	37,23±14,15 ^a	32,58±8,93 ^{ab}	29,97±12,14 ^a	26,88±7,38 ^a		
Média	30,69±10,38 ^A	26,99±8,51 ^A	22,63±9,73 ^A	21,55±8,00 ^A		

^{*}Tempo de maturação contado a partir do início do crescimento da cultura de *Penicillium roqueforti*, 14 dias após o furo dos queijos. Letras maiúsculas iguais em uma mesma linha e minúsculas iguais em uma mesma coluna indicam que não há diferença entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey (P>0,05) para cada parâmetro. Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Parâmetros como os índices de extensão e de profundidade da proteólise podem ser adotados como atributos de controle de qualidade para a produção de queijos, uma vez que os índices são baseados em determinação de nitrogênio (Pombo;Lima, 1989). A proteólise é avaliada pela extensão ((%NSpH4,6×100/%NT) e profundidade ((%NS TCA12%×100/%NT) da proteólise dos queijos. O índice de extensão está relacionado à proteólise primária, ou seja, à hidrólise da caseína em peptídeos de alto peso molecular pela ação da quimosina e proteinases naturais do leite. A profundidade da proteólise está relacionada com a formação de peptídeos e aminoácidos de baixo peso molecular, resultantes principalmente da ação das bactérias do ácido láctico (Costa *et al.*, 2018).

As regressões lineares dos índices de proteólise extensão (%) e profundidade (%) dos queijos azuis considerando a média dos tratamentos em cada tempo, dado que não houve diferença entre os tratamentos, nem na interação entre eles (P>0,05) ao longo do tempo de maturação (dias) foram significativas (P<0,05) e estão demonstradas na Figura 11.

Figura 11 - Regressão linear dos índices de proteólise extensão (%) e profundidade (%) ao longo do tempo de maturação (dias)



Fonte: Elaborado pela autora (2024)

As modificações nos índices de proteólise ao longo do tempo de maturação envolvem, principalmente, a ação de enzimas produzidas por diferentes microrganismos. Os peptídeos de alta, média e baixa massa molecular, liberados são resultantes das atividades enzimáticas provenientes da ação do coalho ou coagulante, do fermento lático, de enzimas de microrganismos secundários e de enzimas naturais do leite (Perry, 2004).

Para este estudo, os resultados indicaram que os diferentes tipos de embalagem não influenciaram nos índices de proteólise dos queijos azuis durante a

maturação. Embora a proteólise contribua para a elevação do pH, a ausência de diferença entre os tratamentos sugere que o aumento do pH possivelmente tenha tido maior influência de microrganismos e alterações relacionadas à casca (Furtado, 2013).

Fatores como o teor de sal, teor de umidade e as condições de armazenamento influenciam a proteólise (Dutra, 2017). A atividade enzimática que ocorre durante a maturação é fortemente controlada pela presença de sal (Paula *et al.*, 2009). Temperaturas elevadas de maturação (acima de 12°C) para queijos azuis podem dificultar a oxigenação da massa e favorecer o crescimento de mofo e de microrganismos indesejáveis na superfície do queijo. Por outro lado, a diminuição da temperatura da câmara fria (abaixo de 8°C) pode retardar a proteólise e o desenvolvimento de microrganismos (Dutra, 2017).

Duval et al. (2018) ao avaliar o efeito de diferentes embalagens (plástica a vácuo, alumínio e filme extensível) na proteólise em diferentes tipos de queijos azuis observou que em todos os queijos as frações proteicas aumentaram ao longo da maturação.

Moreira *et al.*, (2018) pesquisou o efeito da proteólise em queijos azuis durante a maturação. Os queijos apresentaram aumento dos índices de proteólise ao final de 49 dias de maturação; a extensão atingiu 30,7% e a profundidade chegou a 24,4%.

Os índices de proteólise mais elevados em queijos azuis podem estar relacionados ao crescimento do fungo *Penicillium roqueforti* que são altamente proteolíticos e capazes de produzir proteases e outras enzimas que contribuem para a consistência de queijos mofados. Queijos azuis com longo tempo de maturação podem apresentar índices de profundidade próximos a 50% (Furtado, 2013).

5.1.4 Perfil de textura

Os parâmetros analisados, dureza, coesividade, elasticidade e mastigabilidade dos queijos azuis não apresentaram diferença significativa em relação ao tipo de embalagem (P>0,05) (Tabela 5). Ao longo do tempo de maturação somente a coesividade dos queijos nas diferentes embalagens apresentou diferenças significativas (P<0,05).

Tabela 5 - Perfil de textura (média ± desvio padrão) dos queijos azuis embalados em alumínio e em embalagem plástica a vácuo

*Tempo de maturação contado a partir do início do crescimento da cultura de *Penicillium roqueforti*, 14 dias após o furo dos queijos. Letras

Tempo	Dureza (g)		Coesi	vidade	Elasticid	ade (mm)	Mastigabilidade (mJ)	
(dias)* 	Alumínio	Plástico	Alumínio	Plástico	Alumínio	Plástico	Alumínio	Plástico
1	454,3±227,17 ^a	454,3±227,17 ^a	0,61±0,12 ^a	0,61±0,12 ^a	8,18±3,10 ^a	8,18±3,10 ^a	16,93±5,26 ^a	16,93±5,26 ^a
15	247,44±92,99 ^a	327,67±57,63 ^a	0,50±0,04 ^{ab}	0,53±0,05 ^{ab}	4,74±0,92 ^a	10,53±0,37 ^a	5,85±1,87 ^a	17,96±4,11 ^a
30	199,06±116,49ª	316,92±100,39 ^a	0,45±0,04 ^{ab}	0,49±0,04 ^{abc}	9,29±4,69 ^a	6,67±3,25 ^a	6,40±0,26 ^a	9,52±5,11 ^a
45	302,02±36,18 ^a	328,99±111,54ª	0,44±0,05 ^{ab}	0,37±0,11 ^{bc}	7,46±3,53 ^a	9,01±1,33 ^a	8,40±3,65 ^a	11,31±3,54ª
60	270,67±87,33 ^a	391,56±92,24 ^a	0,41±0,06 ^b	0,31±0,05°	5,78±2,50 ^a	4,18±1,01 ^a	6,70±4,61 ^a	5,63±4,66 ^a
Média	294,7±140,91 ^A	363,89±123,33 ^A	0,48±0,09 ^A	0,46±0,13 ^A	7,09±3,19 ^A	7,71±2,88 ^A	8,85±5,26 ^A	12,27±6,15 ^A

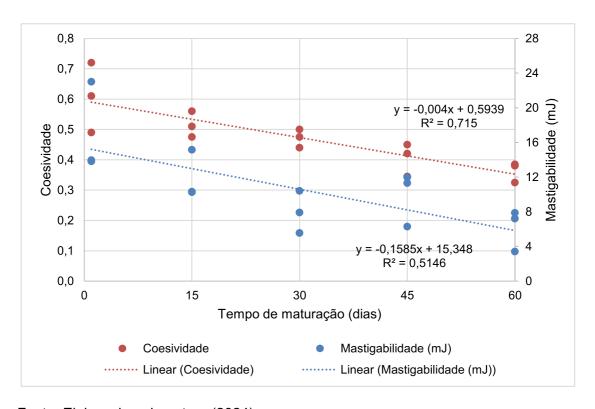
maiúsculas iguais em uma mesma linha e minúsculas iguais em uma mesma coluna indicam que não há diferença entre as médias dos tratamentos pelo teste de Tukey para coesividade e teste de Dunn para os demais parâmetros (P>0,05).

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

A dureza é dada pela resistência a uma deformação, e a mastigabilidade refere-se à quantidade de trabalho necessária para mastigar uma amostra sólida até o ponto de ser engolida (Foegeding; Drake, 2007). A coesividade expressa a deformação sofrida pelo material antes de sua ruptura ao ser mordido completamente na boca (Diezhandino *et al.*, 2016)

Ao analisar os dados globais de cada parâmetro de textura dos queijos azuis ao longo da maturação (visto que não houve diferença entre embalagens), foi possível observar um comportamento linear descendente da coesividade e da mastigabilidade dos queijos azuis ao longo do tempo, mantendo-se constante dureza e elasticidade. As regressões calculadas foram significativas (P<0,05) e estão demonstradas na Figura 12.

Figura 12 - Regressão linear dos parâmetros mastigabilidade e coesividade ao longo do tempo de maturação (dias)



Fonte: Elaborado pela autora (2024)

Dessa forma, observa-se que os queijos ficaram mais quebradiços ao longo da maturação, resultando em produtos menos coesos e mais fáceis de serem mastigados, o que é esperado pelo aumento da proteólise devido às reações bioquímicas causadas pelo crescimento de *Penicillium roqueforti*.

A proteólise interfere diretamente na textura do queijo, e pode torná-lo mais macio devido à hidrólise da matriz caseínica, à medida que o tempo de maturação aumenta. Também ocorre um enfraquecimento da rede de proteínas, o que pode afetar a coesividade dos queijos (Lawrence; Creamer; Gilles, 1987).

5.2 Efeito do tipo de embalagem e do tempo de maturação na formação de aminas bioativas dos queijos azuis

O teor de feniletilamina nos queijos azuis apresentou diferença entre as embalagens, sendo a média 9,71±7,30 mg/kg dos queijos em embalagem de alumínio significativamente inferior a 22,56±9,89 mg/kg encontrados nos queijos em embalagem plástica. Com relação ao tempo de maturação, não houve diferença significativa para o teor desta aminanos queijos embalados em plástico a vácuo (P>0,05), no entanto, nos queijos embalados em alumínio, o teor de feniletilamina aumentou com o tempo (P<0,05). O teor de espermina no queijo embalado em alumínio (156,93±85,94 mg/kg) foi menor (P<0,05) que no queijo embalado em plástico (244,72±63,75 mg/kg). Para as outras aminas e o teor de aminas totais não houve diferença significativa entre as embalagens ou ao longo da maturação (P>0,05).

O teor de tiramina apresentou correlação de Pearson significativa (P<0,05) positiva com a profundidade de proteólise, e negativa com a coesividade e atividade de água, demonstrando que quanto maior a proteólise dos queijos e menor a atividade de água, maior o teor de tiramina nos queijos azuis. A serotonina apresentou comportamento contrário em relação à atividade de água, pois apresentou correlação significativa positiva (P<0,05) com a atividade de água. Agmatina apresentou correlação positiva significativa (P<0,05) com o resíduo mineral fixo e negativa com o pH. Espermidina correlacionou-se positivamente com o teor de sal e a espermina negativamente com o pH e a extensão da proteólise (P<0,05). As correlações citadas são maiores que 0,6 em módulo.

Estas correlações demonstram o quanto são complexas as interações bioquímicas que ocorrem durante a maturação dos queijos azuis, levando à formação de aminoácidos livres, que por descarboxilação geram as aminas

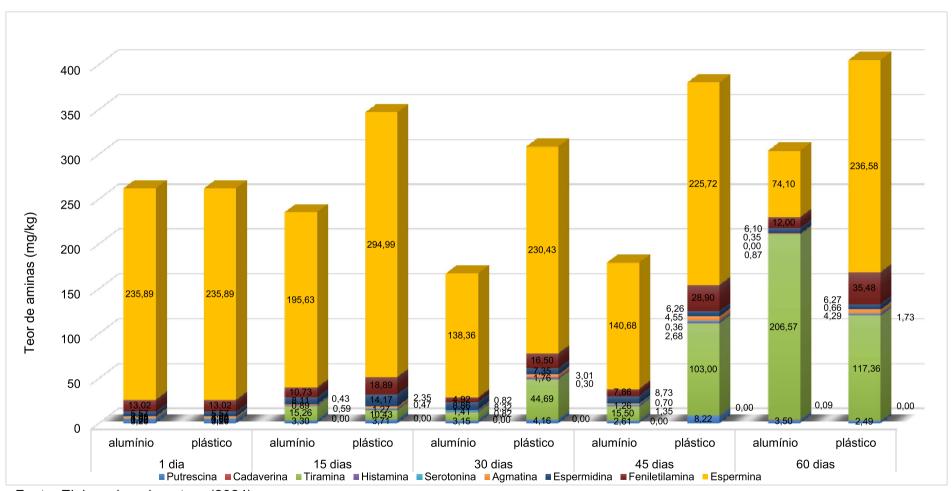
bioativas. A Tabela 6 e o Gráfico 1 apresentam o teor de aminas bioativas nos queijos azuis embalados em alumínio e plástico a vácuo, ao longo da maturação.

Tabela 6 - Teor de aminas bioativas nos queijos azuis embalados em alumínio e plástico a vácuo ao longo da maturação

	Putrescina (mg/kg)	Cadaverina (mg/kg)	Tiramina (mg/kg)	Histamina (mg/kg)	Serotonina (mg/kg)	Agmatina (mg/kg)	Espermidina (mg/kg)	Feniletilamina (mg/kg)	Espermina (mg/kg)	Aminas totais (mg/kg)
Tempo(dias)*					Queijos azuis	embalados er	n alumínio			
1	3,20±1,94	nd	nd	0,89±0,89	1,02±1,01	2,06±2,04	5,57±1,53	13,02±2,47	235,89±74,96	261,65±76,45
15	3,30±0,75	nd	15,26±23,83	0,89±1,16	0,59±0,51	0,43±0,74	8,11±1,12	10,73±7,40	195,63±106,44	261,65±76,45
30	3,15±1,92	nd	8,32±13,95	1,41±1,86	0,82±0,72	0,82±0,54	8,86±2,35	4,92±3,66	138,36±78,71	234,94±110,33
45	2,61±2,80	nd	15,50±26,66	1,26±1,63	1,35±1,20	0,70±0,40	8,73±4,68	7,86±3,67	140,68±36,89	346,28±67,45
60	3,50±2,85	0,09±0,16	206,57±357,80	0,87±1,51	Nd	0,35±0,33	6,10±1,84	12,00±14,83	74,1±66,23	166,65±78,98
Média ± desvio padrão	3,15±1,88	0,02±0,07	49,13±158,66	1,06±1,25	0,75±0,83	0,87±1,08	7,47±2,63	9,71±7,30	156,93±85,94	254,23±92,26
Mínimo	0,14	nd	nd	nd	nd	nd	3,83	0,12	10,50	106,53
Máximo	6,70	0,28	619,72	3,51	2,28	4,07	14,12	28,62	310,73	410,84
Tempo(dias)*				Que	eijos azuis emb	oalados em pl	ástico a vácuo			
1	3,2±1,94	nd	nd	0,89±0,89	1,02±1,01	2,06±2,04	5,57±1,53	13,02±2,47	235,89±74,96	308,19±15,56
15	3,71±2,9	nd	10,43±14,65	1,27±1,12	0,47±0,82	2,35±2,50	14,17±8,77	18,89±2,42	294,99±66,31	178,69±19,55
30	4,16±0,86	nd	44,69±46,52	1,76±1,55	0,30±0,52	3,01±2,65	7,35±3,26	16,50±3,57	230,43±54,44	379,69±100,32
45	8,22±8,92	nd	103,00±147,56	2,68±2,42	0,36±0,62	4,55±4,36	6,26±2,45	28,90±9,31	225,72±101,17	303,58±373,96
60	2,49±1,79	nd	117,36±203,27	1,73±2,09	0,66±1,14	4,29±7,43	6,27±1,24	35,48±7,10	236,58±19,52	404,86±194,71
Média ± desvio padrão	4,36±4,24	nd	55,10±108,52	1,66±1,58	0,56±0,77	3,25±3,76	7,92±4,97	22,56±9,89	244,72±63,75	315±183,21
Mínimo	0,89	nd	nd	nd	Nd	nd	3,43	10,17	149,37	23,29
Máximo	18,50	nd	352,07	4,71	2,02	12,87	24,11	43,57	351,73	728,2

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

Gráfico 1 - Teores médios de aminas bioativas nos queijos azuis embalados em alumínio e plástico a vácuo, ao longo da maturação (mg/kg)



Fonte: Elaborado pela autora (2024).

As aminas cadaverina e putrescina estão relacionadas com a perda de qualidade do alimento e são indicadores de deterioração ou contaminação (Glória, 2006). A serotonina auxilia na regulação de funções como o sono e bem-estar e está relacionada ao sistema nervoso central (Mayer *et al.*, 2009). A agmatina está relacionada a efeitos benéficos a saúde humana e atua como neurotransmissor e estimulador da liberação de insulina (Galgano, Caruso, Condelli e Favati, 2012).

Em relação aos efeitos adversos à saúde humana, a tiramina e a triptamina podem provocar um aumento na pressão sanguínea por meio da constrição do sistema vascular e do incremento na velocidade e força da contração cardíaca. Já a histamina induz a vasodilatação periférica, resultando na redução da pressão sanguínea, aumento da contração e velocidade do batimento cardíaco, além de desempenhar papéis na contração e relaxamento do músculo liso, agindo como estimulante dos neurônios nos sistemas motor e sensorial (Smith, 1981; Stratton *et al.*, 1991; Gloria, 2006).

El-Zahar (2014) realizou no Egito um estudo sobre o perfil microbiológico e a presença de aminas biogênicas em queijos maturados ao longo de 6, 9 e 12 meses. Foi detectado em queijos azuis a presença das aminas histamina, tiramina, putrescina e cadaverina. O conteúdo total de aminas encontrado variou de 20 a 90 mg/kg de queijo aumentando à medida que o tempo de estocagem avançava.

Pesquisas conduzidas por Vale; Gloria (1998) identificaram a presença de histamina (29,9 mg/kg) e tiramina (10,7 mg/kg) em queijo Gorgonzola. Moreira *et al.* (2018) detectaram tiramina (33,3 mg/100g), serotonina (3,6 mg/100g), agmatina (3,4 mg/100g) e histamina (2,4 mg/100g) ao final de 49 dias de maturação.

No presente estudo, a média encontrada de tiramina foi de 52,11 mg/kg e 1,41mg/Kg de histamina. Esses resultados tornam-se um ponto de atenção para aqueles indivíduos que utilizam medicamentos inibidores da enzima monoaminoxidase (IMAO), visto que o consumo recomendado de tiramina, nesses casos, é de até 6 mg por refeição por pessoa e em indivíduos com intolerância à histamina; apenas níveis abaixo dos limites de detecção podem ser considerados seguros (EFSA, 2011).

A feniletilamina é uma amina biogênica derivada da fenilalanina e atua como neuromodulador no sistema nervoso central, estimulando a liberação de dopamina, serotonina e norepinefrina. No entanto, a feniletilamina pode potencializar os efeitos

negativos causados pelas aminas tiramina e histamina e levar a palpitações e dores de cabeça, sendo especialmente prejudicial para pessoas com hipertensão ou enxaqueca (EFSA, 2011). Moreira *et al.* (2018) encontraram o teor final de 4,1 mg/100g de feniletilamina em queijo azul. Andiç *et al.* (2011) não identificaram a presença de feniletilamina durante o armazenamento de queijos Kashar por 180 dias a 4 °C, em embalagens plástica com e sem vácuo

Apesar da embalagem plástica a vácuo permitir a retirada de oxigênio, o que resulta na criação de um ambiente com potencial redox negativo que pode alterar o desenvolvimento de microrganismos, ou a proteólise de queijos (Silva, 2016), Bover-Cid *et al.* (2006) verificaram que a disponibilidade de oxigênio exerceu pouca influência na produção de feniletilamina.

A espermina está relacionada à manutenção do metabolismo celular e envolvida na síntese de DNA, RNA e de proteínas, bem como na estabilização das membranas, e são essenciais no crescimento e duplicação das células e ação antioxidante (Benkerroum, 2016). A espermina foi detectada em menores quantidades em diversos estudos (Moreira et al., 2018; Vale; Gloria, 1998; Andiç et al., 2011; Novella Rodriguez et al., 2003). No entanto, a produção de aminas bioativas está relacionada a grupos específicos de microrganismos (EFSA, 2011). Em geral, existem poucas informações diretas de estudos que correlacionem invólucros a formação de espermina, bem como a influência de leveduras e de fungos filamentosos no acúmulo de determinadas aminas bioativas.

5.3 Análise de Componentes Principais (PCA)

Para a Análise de Componentes Principais (PCA) realizada com os dados obtidos dos parâmetros físico-químicos, perfil de textura e teores de aminas bioativas ao longo do tempo, os três primeiros componentes (PC1, PC2 e PC3) explicaram 91,48% da variância total, sendo PC1 responsável por 46,96%, PC2 por 23,67% e PC3 por 20,85%. O PC1 apresentou correlações positivas altas com serotonina (0,618), espermina (0,912), atividade de água (0,938), coesividade (0,995) e mastigabilidade (0,929) e correlações negativas com tiramina (-0,841), histamina (-0,701), feniletilamina (-0,705), pH (-0,928), extensão (-0,976) e profundidade da proteólise (-0,981). Já PC2 apresentou correlações positivas maiores com putrescina (0,903), histamina (0,710), resíduo mineral fixo (0,822) e elasticidade (0,785); correlações negativas com cadaverina (-0,719), teor de gordura (-0,729) e proteína (-0,731). Espermidina (0,983), umidade (0,875), GES (0,798), teor de sal (0,703) e dureza (-0,654) foram as correlações mais relevantes para PC3. Dessa forma, observa-se que PC1 relacionou-se com a proteólise do queijo ao longo do tempo e sua influência nos teores de aminas, perfil de textura, pH e atividade de água, enquanto PC3 esteve relacionado com fatores de composição dos queijos, estando PC2 apresentando-se intermediário entre os componentes principais.

A Figura 13 ilustra as cargas fatoriais da Análise Componentes Principais, sendo as observações ativas os tempos de maturação. É possível diferenciar dois grupos maiores, sendo um grupo contendo os dois primeiros tempos de maturação (1 e 15 dias) e o segundo grupo contendo os tempos finais de maturação (30, 45 e 60 dias). Enquanto no grupo do início da maturação destacam-se as variáveis relativas à composição centesimal do queijo e textura; no segundo grupo encontram-se as variáveis ligadas à proteólise, a maioria das aminas bioativas, resíduo mineral fixo, teor de sal e pH.

6 Putrescina RMF Elasticidade Histamina 4 45 dias Serotonina Agmatina 2 Extensão 30 dias Umidade Profundidade Mastigabilidade PC2 (23,67 %) Espermidina Aw Espermira pH Coesividade 1 dia 15 dias Dureza GES Feniletilamina -2 Tiramina . Sal 60 dias -4 Cadaverina Proteina Gordura -6 -2 2 PC1 (46,96 %) Active variables Active observations

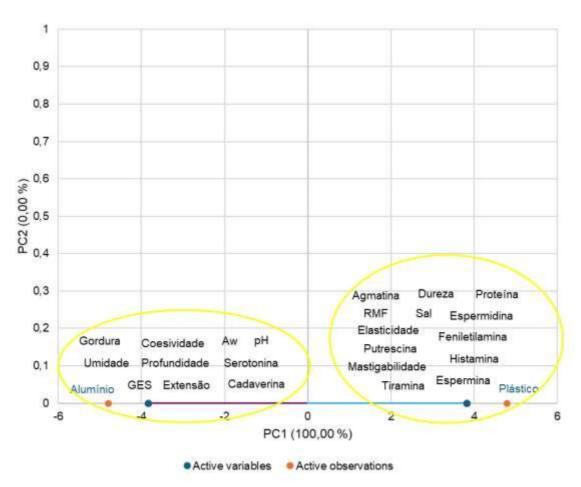
Figura 13 - Cargas fatoriais da Análise Componentes Principais, sendo as observações ativas os tempos de maturação

Fonte: Elaborado pela autora (2024).

É possível diferenciar dois grupos maiores, sendo um grupo contendo os dois primeiros tempos de maturação (1 e 15 dias) e o segundo grupo contendo os tempos finais de maturação (30, 45 e 60 dias). Enquanto no grupo do início da maturação destacam-se as variáveis relativas à composição centesimal do queijo e textura; no segundo grupo encontram-se as variáveis ligadas à proteólise, a maioria

das aminas bioativas, resíduo mineral fixo, teor de sal e pH. Para a Análise de Componentes Principais (PCA) realizada com os dados obtidos dos parâmetros físico-químicos, perfil de textura e teores de aminas bioativas em relação aos tipos de embalagem, apenas 1 componente (PC1) foi suficiente para explicar 100% da variação total. A Figura 14 evidencia as cargas fatoriais da Análise Componentes Principais, sendo as observações ativas os tipos de embalagem. Dois grupos distintos são observados, sendo os parâmetros atividade de água, pH, índices de proteólise, GES, umidade, gordura, coesividade e os teores de serotonina e cadaverina relacionados com a embalagem alumínio, e as sete aminas restantes, dureza, elasticidade, mastigabilidade, resíduo mineral fixo, sal e proteína relacionados à embalagem plástica.

Figura 14 - Cargas fatoriais da Análise Componentes Principais, sendo as observações ativas os tipos de embalagem



Fonte: Elaborado pela autora (2024)

6. CONCLUSÃO

O teor de umidade dos queijos azuis analisados os classifica como de média umidade e a gordura no extrato seco como queijos gordos, o que coloca os queijos produzidos neste experimento em concordância com a legislação. Não houve efeito significativo do tipo de embalagem para umidade, gordura, proteína, resíduo mineral fixo, cloretos e atividade de água. Para os valores de pH não houve diferença no tempo de maturação para os queijos embalados em plástico (P>0,05), mas houve para os embalados em alumínio, sendo que o pH dos queijos embalados em alumínio no último tempo de maturação foi significativamente maior que o do primeiro tempo (P<0,05). Em média, os queijos embalados em alumínio tiveram o pH maior que os embalados em plástico à vácuo (P<0,05).

Em relação aos índices de proteólise dos queijos, não foi observada influência do tipo de embalagem (P>0,05). Na embalagem alumínio, a alteração da extensão e da profundidade dos queijos ao longo da maturação não foi significativa (P>0,05), enquanto na embalagem plástica, o tempo de maturação levou a um aumento dos índices de proteólise (P<0,05) dos queijos. Para o perfil de textura, os parâmetros analisados (dureza, coesividade, elasticidade e mastigabilidade dos queijos azuis) não apresentaram diferença significativa (P>0,05) em relação ao tipo de embalagem e somente a coesividade apresentou nas diferentes embalagens diferença significativa (P<0,05) ao longo do tempo de maturação. Para as aminas bioativas o teor de feniletilamina nos queijos azuis apresentou diferença entre as embalagens, média 9,71±7,30 sendo mg/kg do queijo em embalagem significativamente inferior a 22,56±9,89 mg/kg do embalado em plástico. Com relação ao tempo de maturação, esta amina não apresentou diferença significativa nos queijos embalados em plástico a vácuo (P>0,05), no entanto, nos queijos embalados em alumínio, o teor de feniletilamina aumentou com o tempo (P<0,05). O teor de espermina no queijo embalado em alumínio (156,93±85,94 mg/kg) foi menor (P<0,05) que no queijo embalado em plástico (244,72±63,75 mg/kg). O teor de tiramina apresentou correlação de Pearson significativa (P<0,05) positiva com a profundidade de proteólise, e negativa com a coesividade e atividade de água, demonstrando que quanto maior a proteólise dos queijos e menor a atividade de água, maior o teor de tiramina nos queijos azuis. A serotonina apresentou comportamento contrário em relação à atividade de água, pois apresentou correlação significativa positiva (P<0,05) com a atividade de água. Agmatina apresentou correlação positiva significativa (P<0,05) com o resíduo mineral fixo e negativa com o pH. Espermidina correlacionou-se positivamente com o teor de sal e a espermina negativamente com o pH e a extensão da proteólise (P<0,05).

Os diferentes teores de espermina e feniletilamina encontrados para cada embalagem sugerem a continuação do estudo visto que as análises de correlações realizadas para as aminas bioativas demonstraram o quanto são complexas as interações bioquímicas que ocorrem durante a maturação dos queijos azuis, levando à formação de aminoácidos livres, que por descarboxilação geram as aminas biogênicas.

Ambas as embalagens permitiram que os principais fatores relacionados à maturação dos queijos azuis evoluíssem de forma adequada. Buscar compreender a dinâmica de formação das aminas, em função de fatores como invólucros, temperatura, pH, é importante de forma a minimizar a formação de aminas, tornando os queijos mais seguros.

REFERÊNCIAS

ALEXA, E. A. *et al.* The detailed analysis of the microbiome and resistome of artisanal blue-veined cheeses provides evidence on sources and patterns of succession linked with quality and safety traits. **Microbiome**, v. 12, n. 1, 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s40168-024-01790-4. Acesso em: 05 nov. 2024.

AMARAL, J. W. Aminas biogênicas em queijos artesanais. **Revista Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 29, n. 29, 2022. DOI 10.20396/san.v29i00.8670997. Disponível em: https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/san/article/view/8670997. Acesso em: 02 nov. 2024.

ANDIÇ, S.; TUNÇTÜRK, Y.; GENÇCELEP, H. The effect of different packaging methods on the formation of biogenic amines and organic acids in Kashar cheese. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 4, 2011. DOI 10.3168/jds.2010-3586.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **A produção mundial de lácteos.** São Paulo, 2024. Disponível em: https://www.abiq.com.br. Acesso em: 28 nov. 2024.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE QUEIJO. **Queijos no Brasil**: cenário atual dos queijos. São Paulo, 2022. Disponível em: https://www.abiq.com.br. Acesso em: 6 nov. 2023.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR 12806.** Análise sensorial de alimentos e bebidas. Rio de Janeiro: ABNT, 2017. Disponível em: https://www.normas.com.br/visualizar/abnt-nbr-nm/34266/abnt-nbriso5492-analise-sensorial-vocabulario. Acesso em: 05 jan. 2024.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS INTERNATIONAL. Dairy products. *In:* ROBERT L.; BRADLEY JR. **Official Methods of Analysis of AOAC**. 19. ed. Washington, 2012.

BARONE C. *et al.* Biogenic amines in cheeses: types and typical amounts. In: A Chemical Evolution of Nitrogen-based Compounds in Mozzarella Cheeses. **Springer Briefs in Molecular Science**, v.1, 2018.

BENKERROUM, N. Biogenic Amines in Dairy Products: Origin, Incidence, and Control Means. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, n. 4, 2016. DOI 10.1111/1541-4337.12212. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33401839/. Acesso em: 20 dez. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria n° 146, de 07 de março de 1996. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil:** Brasília, DF, 7 mar. 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 21, de 31 de maio de 2017. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e

Qualidade do Peixe Congelado. **Diário Oficial da União,** seção 1, Brasília, DF, 31 mai. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n° 45, de 23 de outubro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo Azul. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, 24 out. 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n° 185, de 13 de maio de 1997. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Peixe Fresco (Inteiro e Eviscerado). **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 93, 19 mai. 1997. Disponível em:

https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=19/05/1997&jornal=1 &pagina=46&totalArquivos=96. Acesso em: 20 dez. 2024.

BOVER- CID S. *et al.* O congelamento de matérias-primas cárneas afeta o acúmulo de tiramina e diamina em embutidos fermentados espontaneamente. **Science meat**, v 72, 1,62-68, 2006. Disponível em:

https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22061375/ DOI: 10.1016/j.meatsci.2005.06.003. Acesso em: 28 dez 2024.

CHONG, C. Y. *et al.* The effects of food processing on biogenic amines formation. **International Food Research Journal**, v. 18, n. 3, 2011.

COELHO, A. L. K. *et al.* O gosto umami e sua relação com a proteólise e tempo de maturação em queijos: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes,** v. 78, n. 1, 2023. DOI 10.14295/2238-6416.v78i1.923. Disponível em: https://rilct.emnuvens.com.br/rilct/article/view/923. Acesso em: 12 nov. 2024.

COSTA JÚNIOR, L. C. G. **Métodos físico-químicos para controle de qualidade em leite e produtos lácteos**. 1. ed. Juiz de Fora, 2020. 681 p.

COSTA, R. G. B. *et al.* Manufacture of reduced-sodium Coalho cheese by partial replacement of NaCl with KCl. **International Dairy Journal**, v.87, 2018.

COTON, E.; COTON, M.; NOLWENN, H.; MOUNIER, J.; JANY, J. *Penicillium roqueforti:* an overview of its genetics, physiology, metabolism and biotechnological applications. **Fungal Biology Reviews**, 2020, v. 34, n. 2, p.59-73, abr. 2020. Disponível em: chrome-

extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://hal.science/hal-04809285v1/document. Acesso em: 22 nov. 2024.

DABADÉ, D S. *et al.* Survey of multiple biogenic amines and correlation to microbiological quality and free amino acids in foods. **Food Control**, v. 120, fev. 2021. DOI 10.1016/j.foodcont.2020.107497. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/343605464_Survey_of_multiple_biogenic_a mines_and_correlation_to_microbiological_quality_and_free_amino_acids_in_foods. Acesso em: 20 nov. 2024.

DIEZHANDINO, I., *et al.* Rheological, textural, colour and sensory characteristics of a Spanish blue cheese (Valdeón cheese). **LWT - Food Science and Technology**, v. 65, p. 1118-1125, 2016.

DUTRA, E. R. P. **Fundamentos básicos da produção de queijo**. Juiz de Fora: Templo, 2017. p. 13-18.

DUVAL, P. *et al.* Changes in biochemical and sensory parameters in industrial blueveined cheeses in different packaging. **International Dairy Journal**, v. 77, p. 89-99, 2016.

EL-ZAHAR, K.M. Biogenic amines and microbiological profile of cheese Egyptians. **African Journal of Food Science**, v. 8,2014.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. **EFSA Journal**, v. 9, n. 10, 2011. Disponível em: https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2011.2393. Acesso em: 20 nov. 2024.

FOEGEDING, E. A.; DRAKE, M. A. Invited Review: Sensory and mechanical properties of cheese texture. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 4, p. 1611-1624, 2007

FOX, P. F. Bacterial surface- ripened cheeses. In: FOX, P. F. Cheese: Chemistry, physics and microbiology. 2. ed. New York: Elsevier, 1993. v. 2.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. Cheese: An Overview. *In:* Fox, P. F.; Mcsweeney, P. L.H.; Cogan, T. M.; Guinee, T. P. **Salt in cheese: Physical, Chemical and Biological Aspects.** 3. ed. Elsevier Ltda, 2004. p. 1–18.

FURTADO, M. M. Queijos com olhaduras. São Paulo: Fonte, 2007. 179 p.

FURTADO, M. M. Queijos especiais. São Paulo: Setembro Editora, 2013.

FURTADO, M. M. **Receituário Brasileiro de Queijos.** 1. ed. São Paulo: Ativa online Editora e Indústria Gráfica Ltda, 2022. 360 p.

GENIGEORGIS, C. Microbial and safety implications of the use of modified atmospheres to extend the storage life of fresh meat and fish. International **Journal of Food Microbiology**, v.1, p. 237–251, 1985.

GLORIA, M. B. A. Bioactive amines. *In*: HUI, Y. H. **Handbook of Food Science, Technology and Engineering**. 1. ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006.

GUARCELLO, R. *et al.* A survey of the main technology, biochemical and microbiological features influencing the concentration of biogenic amines of twenty Apulian and Sicilian (Southern Italy) cheeses. **International Dairy Journal**, v. 43, p. 61–69, 1 abr. 2014.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Bulletin of the IDF n° 337/1999** - Chemical Methods for Evaluating Proteolysis in Cheese Maturation. Part 2. Brussels: IDF, 1999.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Standard 221: 2008** - Cheese - Determination of fat content - Butyrometer for Van Gulik method. Brussels: IDF, 2008.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **Standard 4: 2004** - Cheese and processed cheese - Determination of the total solids content (Reference Method). Brussels: IDF, 2004.

JORGE, N. **Embalagens para alimentos.** São Paulo: Cultura Acadêmica: Universidade Estadual Paulista, Pró-Reitoria de Graduação, 2013. 194 p.

KANDASAMY, S., et al. Quantitative Analysis of Biogenic Amines in Different Cheese Varieties Obtained from the Korean Domestic and Retail Markets. **Metabolites**, v. 11, n.1, 2021.

KINCHESKI, A. L. C. *et al.* O gosto umami e sua relação com a proteólise e tempo de maturação em queijos: uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes,** v. 78, n.1, 2023.

LAWRENCE, R. C.; CREAMER, L. K.; GILLES, J. Texture development during cheese ripening. **Journal of Food Science**, v. 49, 1987.

LEÃO, G. S. *et al.* Influência da aplicação de revestimento comestível em queijo Minas artesanal durante o período de maturação. **Holos**, 36, v.2, 2020.

LÓPEZ-DÍAZ, T. M. *et al.* Blue Cheeses: Microbiology and Its Role in the Sensory Characteristics. **Dairy,** v. 4, n. 3, 2023.

LOURENÇO NETO, J. P. M. **Queijos: aspectos tecnológicos**. Juiz de Fora: Master Graf, 2013. 270 p.

MAYER, *et al* . A new ultra-pressure liquid chromatography method for the determination biogenic amines in cheese. **Journal of Chromatography A.**, v. 1217, n. 19, p. 3251-3257, 2009. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19781707/. Acesso em: 22 nov. 2024.

MCSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening. In: FUQUAY, J. W.; FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H. **Encyclopedia of Dairy Sciences**. 2. ed. San Diego: Elsevier Ltd., 2011.

MCSWEENEY, P. L. H. Biochemistry of cheese ripening. **International Journal of Dairy Technology**, v. 27, n. 2/3, p. 127-144, 2004.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **Políticas públicas e privadas para o leite**. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/mapa-do-leite. Acesso em: 3 de mar. De 2024.

MONIENTE M. *et al.* Histamine accumulation in dairy products: Microbial causes, techniques for the detection of histamine-producing microbiota and potential solutions. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 20, n. 2, p. 1481-1523, 2020.

MOREIRA, G. M. M. *et al.* Effect of ripening time on proteolysis, free amino acids, bioactive amines and texture profile of Gorgonzola-type cheese. **LWT - Food Science and Technology**, v. 98, p. 583-590, 2018.

- NICKLAS, T. A.; DREWNOWSKI, A.; O'NEIL, C. E. Trends in Dairy and Non-Dairy Beverage Consumption: Associations with Diet Quality and Body Weight Outcomes in US Adults, 1999–2016. **Nutrients**, v. 11, n. 12, 361, 2019.
- NOVELLA RODRIGUEZ *et al.* Distribution of biogenic amines and polyamines in cheese. **Journoul Food Science**, v 68 2003. Disponível em: https://eurekamag.com/research/074/926/074926524.php?srsltid=AfmBOooX37DS2 VjJPINvB8essMXUXcBf7qV9vtOl-MnB3IHEpbKb-CQC. Acesso em: 10 dez 2024.
- OMER, A. K. *et al.* Presence of biogenic amines in food and their public health implications: a review. **Journal of Food Protection**, v. 84, n. 9, 2021.
- PAGTHINATHAN, M.; NAFEES, M. S. M. Biochemistry of cheese ripening. **AGRIEAST: Journal of Agricultural Sciences**, v. 10, p.16-26, 2015.
- PAULA, J. C. J. de; CARVALHO, A. F. FURTADO, M. M. Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 367/368, p. 19-25, 2009.
- SAHA, N.; CHUNG, R.; MCINTYRE, L.. A review of biogenic amines in fermented foods: occurrence and health effects. **Heliyon**, v. 10, n. 2, 24501, 2024.
- SANTOS, E. B. *et al.* Quantification of biogenic amines in fabrication steps of Gorgonzola-type cheese. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária** v. 27, n. 2, p. 93–101, 2020.
- SHALABY, A. R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. **Food Research International**, v. 29, n. 7, p. 675–690, 1996.
- SILVA, C. M. G.; GLÓRIA, M. B. A. Bioactive amines in chicken breast and thigh after slaughter and during storage at 4°C and in chicken-based meat products. **Food Chemistry**, v. 78, n. 3, p. 241-248, ago. 2002.
- SILVA, R., N., R.; MARQUES, C. A. T. **Processos da maturação em queijos**. I Simpósio Online Sul-americano de Tecnologia, Engenharia e Ciência de Alimentos. 2022.
- SILVA, S. F. Avaliação de sistemas de embalagem na estabilidade do queijo Minas frescal probiótico e na viabilidade da *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis*. [Tese]. Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, 2016.
- SMITH, T. A. Amines in food. **Food Chemistry**, v. 6, p. 169-200, 1980-81.
- SOBRAL, D. *et al.* Can lutein replace annatto in the manufacture of Prato cheese **LWT Food Science and Technology**, v. 68, p. 349–355, 2016.
- SOBRAL, D. *et al.* Can lutein replace annatto in the manufacture of Prato cheese? **LWT Food Science and Technology**, v. 68, p. 349-355, mai. 2016. DOI 10.1016/j.lwt.2015.12.051. Disponível em: hppt://handle.net/1843/40142. Acesso em: 12 set. 2024.

SOUSA, A. Z. B. D. *et al.* Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em estados do nordeste do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 1, p. 30–35, mar. 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1590/S1808-16572014000100006. Acesso em: 22 nov. 2024.

STRATTON, J. E.; HUTKINS, R. W.; TAYLOR, S. L. Biogenic amines in cheese and other fermented foods: a review. **J. Food Protect.**, v. 54, p. 460-470, 1991

VALE, S.; GLÓRIA, M. B. A. Biogenic amines in Brazilian cheeses. **Food Chemistry**, v. 63, n. 3, p. 343–348, 1998.

WOLFSCHOON-POMBO, A. L.; LIMA, A. Extensão e profundidade da proteólise em queijo Minas Frescal. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 44, n. 261-266, p. 50-52, 1989.

ZHANG, J., *et al.* Composition, coagulation characteristics, and cheese making capacity of yak milk. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 2, p. 1276-1288, 2020.