

MICROBIOLOGIA DE QUEIJO TIPO COALHO PRODUZIDO COM LEITE PASTEURIZADO RECOBERTO COM COBERTURA A BASE DE FÉCULA DE MANDIOCA E SORBITOL

Karoline Mikaelle de Paiva Soares¹
José Lucas Girão Rabelo²
Barbara Camila Firmino Freire³
Flávio Estefferson de Oliveira Santana⁴

RESUMO

Devido a crescente conscientização sobre os problemas ambientais causados pelo descarte de embalagens plásticas, novas metodologias vem sendo buscadas para a conservação de alimentos. Os biopolímeros surgem nesse cenário como matéria prima para a produção de coberturas comestíveis e conservação de alimentos, com as vantagens de serem biodegradáveis e renováveis. Portanto, este trabalho teve por objetivo avaliar coberturas biopoliméricas de fécula de mandioca e sorbitol em parâmetros microbiológicos de queijos coalho. O trabalho se deu pela análise de amostras de queijo coalho revestidas com coberturas biopoliméricas de fécula de mandioca a concentrações de 2% (F2) e 3% (F3), foram realizadas então análises microbiológicas nos dias 0, 3 e 6 durante um período de 6 dias, analisando-se micro-organismos aeróbios mesófilos, bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes, e *Staphylococcus* coagulase positivo. Como resultado, todos os grupos estudados, controle (C1), F2 e F3 apresentaram resultados satisfatórios para coliformes totais, os valores variaram de <math><3,0\text{ NMP/g}</math> a $3,6\text{ NMP/g}$, todas as amostras apresentaram resultados negativos para análise de coliformes termotolerantes. Para bactérias mesófilas aeróbicas o grupo F2 apresentou redução de quase $3,00\text{ log}_{10}\text{ UFC/g}$ no sexto dia de análise quando comparado com o grupo controle. Nas análises de bolores e leveduras não foram encontradas diferenças significativas entre os tratamentos e o grupo controle. Na contagem de *Staphylococcus* spp. o grupo F3 apresentou os melhores resultados no sexto dia de análise, conseguindo inibir o crescimento de tal micro-organismo. Estes resultados mostram que as coberturas foram eficientes no controle do desenvolvimento de bactérias deteriorantes e patogênicas em queijo coalho.

Palavras-chave: Tecnologia de Alimentos, Revestimento, Leite e derivados.

INTRODUÇÃO

Os queijos são produtos lácticos obtidos mediante a aplicação de tecnologias ao leite, são alimentos que possuem boa aceitação pelos consumidores, principalmente devido suas características organolépticas. Através de diferentes tecnologias aplicadas a sua produção, pode-se obter uma grande variedade de queijos (MOTTIN et al., 2016; PEREIRA et al.,

¹ Doutor pelo Curso de Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-árido – UFERSA, karolinesoares@ufersa.edu.br;

² Graduado pelo Curso de Biotecnologia da Universidade Federal Rural do Semi-árido- UFERSA, joelucasrabelo@gmail.com;

³ Mestre pelo Curso de Ambiente Tecnologia e Sociedade da Universidade Federal Rural do Semi-árido - UFERSA, bcamila.ffreire@gmail.com;

⁴ Mestrando do Curso de Produção Animal da Universidade Federal Rural do Semi-árido- UFERSA, flavioestefferson@hotmail.com.

2018). Dentre estes, destaca-se o queijo coalho, um produto típico da região Nordeste do Brasil, que é comumente produzido de maneira artesanal utilizando como matéria-prima leite rico em bactérias lácticas, que auxiliam na construção das características organolépticas deste alimento, como odor, sabor e textura (SANTOS et al., 2019).

O queijo coalho apresenta umidade que pode variar de média a alta, podendo ser de massa cozida ou semi-cozida (BRASIL, 2001). Por ser comumente produzido de forma artesanal muitos manipuladores não seguem as boas práticas de manipulação e em muitos casos é comum a produção de queijo com leite cru, ou seja, sem tratamento térmico adequado, isso atrelado a falta de higienização no momento da ordenha e armazenamento aumentam os riscos de contaminação do queijo por micro-organismos patogênicos, tornando o alimento um veículo de DTAs (Doenças Transmitidas por Alimentos) e também, aumentando as chances de contaminação por micro-organismos deteriorantes, causando uma diminuição da qualidade do queijo e tornando-o impróprio para o consumo (SANTANA et al., 2008; SILVA, 2017).

Tais micro-organismos são caracterizados como indesejados, visto que, causam prejuízos ao queijo, sejam pela transmissão de doenças ou pela deterioração do alimento. Estes micro-organismos são comumente utilizados para avaliar a qualidade de alimentos assim como se os manipuladores utilizam a adoção de boas práticas de manipulação. É o caso dos coliformes totais e termotolerantes, bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, e *Staphylococcus aureus* (MAGALHÃES, 2016), que representam importantes grupos de importância de alimentos.

Os coliformes totais e termotolerantes devem ser analisados em queijos quando se necessita verificar a qualidade desse alimento, é descrito como parâmetro microbiológico em queijo no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos (BRASIL, 1996) já que suas altas contagem indicam a ausência de condições higiênico sanitária satisfatórias no processamento de queijos (MOTTIN, 2016). Sua importância se dá pelo fato do seu metabolismo fermentativo leva a formação de gás, e quando em grandes quantidades leva o estufamento precoce causando a formação de furos no queijo, podendo ainda causar intoxicações alimentares (FORSYTHE, 2013; MAGALHÃES, 2016).

As bactérias aeróbias mesófilas, são micro-organismos que apresentam temperatura de crescimento variando de 20 – 40°C. Sua presença em alimentos é um indicativo de déficit nas práticas higiênico sanitárias durante as etapas de processamento, transporte, armazenamento e até mesmo comercialização do alimento. Para realizar seu metabolismo utilizam os açúcares e proteínas dos alimentos como fonte de energia, o que as

caracterizam como bactérias deteriorantes. Esse processo causa deterioração no queijo alterando características perceptíveis pelos órgãos do sentido humano como odor, aparência e sabor, tornando o alimento impróprio para o consumo (MAIESKI, 2011).

Bolores e leveduras fazem parte do reino fungi (MADIGAN, 2016). São micro-organismos deteriorantes nos alimentos, sendo que diversas espécies já foram identificadas em queijo como *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. Uma característica desse grupo, é que conseguem se desenvolver em alimentos ácidos e com pouca atividade de água, tornando-os não tão exigentes como as bactérias. Como resultado de seu metabolismo secundário os fungos produzem toxinas, ou como são comumente chamadas, micotoxinas. Tais moléculas variam em estrutura e peso molecular, variando de 50 Da a >500 Da, são produzidas após os fungos atingirem período de maturidade. As micotoxinas não apresentam nenhuma função aparente no metabolismo dos fungos, porém, quando ingeridas por humanos ou animais podem causar danos ao organismo, induzindo efeitos carcinogênicos, hepatotóxicos e até mutagênicos (FORSYTHE, 2013; FREIRE et al, 2007).

Staphylococcus aureus é uma bactéria patogênica responsável pela produção de fatores de patogenicidade como fosfatases, coagulases e estafiloquinases. É caracterizada como uma cepa enterotoxigênica devido à capacidade de produzir enterotoxinas responsável por muitos surtos infecciosos, tais moléculas possuem baixo peso molecular e sua ingestão mesmo em pequenas doses, pode acarretar sintomas de intoxicação. (FORSYTHE, 2013). Representam um grupo importante na análise de qualidade de alimentos pois seus principais reservatórios são as vias nasais, cabelo, pele e garganta, de humanos o que torna os manipuladores e utensílios de manipulação os maiores causadores de contaminação por *Staphylococcus* em alimentos, o que aumenta a importância da adoção de boas práticas de manipulação (JAY, 2005).

Vendo então a necessidade de metodologias alternativas que auxiliem no controle da qualidade de alimentos os revestimentos biodegradáveis surgem como uma alternativa aos revestimentos plásticos derivados do petróleo. Tais revestimentos utilizam como matéria-prima polímeros naturais como polissacarídeos obtidos de fontes renováveis que permitem a formação de uma atmosfera modificada que mantém a qualidade do alimento por diminuir processos deteriorantes como os oxidativos, pelo impedimento do contato do alimento com o oxigênio externo, possibilitando também diminuição na taxa de crescimento de micro-organismos deteriorantes, proporcionando um aumento na vida de prateleira do alimento sem

alterar suas características intrínsecas e assim sua aceitabilidade pelo consumidor (SOUZA, 2017; FAI et al., 2008; PEREIRA et al, 2018).

A crescente busca pela conservação de alimentos levou ao crescimento da utilização de plásticos oriundos do processamento do petróleo como principal agente na produção de embalagens, mas devido aos impactos ambientais ocasionados pelo grande tempo demandado para decomposição desses plásticos torna-se necessário a adoção de alternativas mais sustentáveis. O uso de polímeros naturais e não sintéticos é uma ótima alternativa aos derivados do petróleo, sua utilização diminuiriam os impactos causados ao meio ambiente por se caracterizarem como material biodegradável e ainda diminuiriam os custos de produção por advirem de fontes renováveis (SILVA, 2016).

Como biopolímero, passível de utilização para a produção de coberturas comestíveis, a fécula de mandioca destaca-se por ser amplamente disponível e pelo seu baixo custo, assim como, por gerar uma menor quantidade de impurezas durante os processos de extração quando comparados a outros amidos (FARKHOURI et al., 2007; PEIXOTO; RESCH, 2018). Caracteriza-se como um pó branco, inodoro e insípido, sua obtenção se dá por processos tecnológicos aplicados nos tubérculos de mandioca para a extração da fécula (ALCÂNTARA & MENDES, 2018). O Brasil produz em larga escala a fécula de mandioca, segundo o CEPEA/USP em 2018 foram produzidas 536,6 mil toneladas de fécula de mandioca no Brasil, demonstrando assim a facilidade de obtenção da mesma como matéria prima.

A fécula de mandioca apresenta-se na forma de grânulos semi-cristalinos formado por duas moléculas de resíduos de glicose, sendo eles a amilose e a amilopectina (FRAZIER, 2015). A diferenciação entre os resíduos glicosídicos que formam a fécula de mandioca se dá basicamente na linearidade e tipo de ligação entre as moléculas, onde a amilose apresenta uma cadeia linear formada por ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ entre unidades de D-glicose, já a amilopectina além da cadeia linear formadas por ligações glicosídicas $\alpha(1\rightarrow4)$ entre unidades de D-glicose apresenta ainda em sua estrutura ramificações nas posições $\alpha(1\rightarrow6)$. Vale ressaltar que as proporções de tais açúcares na constituição da fécula podem variar, e dependendo de tal variação podem ocorrer modificações na estrutura final do grânulo assim como em suas propriedades podendo alterar suas aplicações industriais (SHIMAZU et al; 2007, FREIRE, 2019).

Um grande problema em relação à produção de revestimentos que utilizam amidos como matéria prima é baixa qualidade de fatores mecânicos apresentados pelo revestimento. Para solucionar tais defeitos torna-se necessário a adição de um agente plastificante na

solução. Agentes plastificantes nada mais são que compostos que quando adicionados nas formulações dos revestimentos melhoram consideravelmente características como resistência, elasticidade e flexibilidade do filme, auxiliando no desenvolvimento de uma barreira a permeabilidade de vapores de água. O sorbitol é um plastificante bastante aplicado na produção de filmes, ele é formado por pequenas moléculas que interagem com as ligações poliméricas da fécula de mandioca, agregando então as características mecânicas citadas (CRUZ, 2018; GOMES, 2015).

Diversos estudos mostram que a produção de revestimentos utilizando sorbitol como agente plastificante em formulações compostas por amido, apresentam características mecânicas superiores quando comparado ao uso de glicerol (FAKHOURI, 2015). Gomes 2015, ao avaliar o efeito do sorbitol e do glicerol nas características físicas, térmicas e mecânicas de hidrogel de amido de milho mostrou que o sorbitol em certas concentrações promove uma maior quantidade de ligações, permitindo a formação de redes mais complexas. Segundo resultados do autor o sorbitol é o plastificante que possibilita maior e melhor interação da água com as moléculas poliméricas, resultando assim em formulações com maior resistência quando comparadas ao glicerol.

METODOLOGIA

Os queijos utilizados no estudo foram produzidos com leite pasteurizado obtidos sob condições ideais de armazenamento e refrigeração adquirido de comercio varejista local, após a aquisição o leite foi transportado imediatamente ao Laboratório de Biotecnologia de Alimentos (CCA/UFERSA) onde foi processado em queijo seguindo metodologia descrita por Nassu (2006) com adaptações, onde foram retiradas as etapas de adição de fermento láctico e de maturação do queijo. As etapas resumidas do processamento foram de aquecimento do leite pasteurizado a 35°C, adição de cloreto de cálcio (CaCl₂), adição do coalho, coagulação, corte e mexedura da coalhada, cozimento da massa, salga, enformagem, prensagem e viragem.

Após a obtenção dos queijos foram produzidos as coberturas comestíveis a base do biopolímero de fécula de mandioca seguindo metodologia descrita por Oliveira et al, (2018). Foram feitas soluções nas concentrações de 2% e 3% de fécula de mandioca utilizando como agente plastificante o sorbitol a uma concentração de 20% do extrato seco de fécula e completado com água destilada estéril até obtenção do volume final de 100ml. Com a finalização das coberturas o queijo, previamente produzido, foi cortado de maneira aséptica

em pedaços de aproximadamente 30g e divididos em grupos para a aplicação dos tratamentos, conforme tabela 1.

As coberturas foram aplicadas por método *dipping* conforme descrita em Freire (2019), onde as peças foram imergidas na solução filmogênica de mandioca três vezes com o auxílio de palitos de madeiras previamente esterilizados, fixadas em um suporte de isopor protegido com filme pvc para completa secagem em temperatura ambiente durante um período de até 4 horas . As peças do grupo controle foram submetidas à manipulação similar, porém, sem o revestimento por coberturas comestíveis.

Tabela 01: Identificação dos grupos estudados de acordo com a porcentagem de fécula de mandioca e sorbitol usadas na formulação das coberturas.

Controle (sem tratamento)	C1
Revestimento a 2% de fécula de mandioca e 20% do extrato seco de sorbitol	F2
Revestimento a 3% de fécula de mandioca e 20% do extrato seco de sorbitol	F3

Após secagem, as peças foram embaladas e armazenadas em refrigeração convencional a temperatura de $9 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por um período de seis dias. Durante o armazenamento as amostras foram submetidas a análises microbiológicas nos dias 0, 3 e 6.

As análises microbiológicas foram realizadas em condições assépticas com material previamente esterilizado, foram avaliados bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, coliformes totais e termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva. Todas as análises microbiológicas foram realizadas de acordo com a Instrução Normativa N°62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) para produtos de origem animal (BRASIL, 2003), seguindo metodologia descrita em Silva et al. (2007).

Para a realização das diluições, 25g das amostras de cada grupo foi pesada, e diluída com o auxílio de agitador em 225ml de solução salina peptonada 0,1% para a produção da diluição 10^{-1} , para a obtenção das diluições posteriores 1ml da diluição 10^{-1} foi pipetada para um tubo contendo 9ml de solução salina peptonada, obtendo-se assim a diluição 10^{-2} , este processo foi realizado até obtenção da diluição 10^{-6} . Foi realizada a semeadura de 1ml das diluições 10^{-5} e 10^{-6} em placas de Petri contendo de 15 a 20 ml de meio PCA (Plate Count

Agar) para contagem de bactérias aeróbias mesófilas, BDA (Batata-Dextrose-Ágar) para a contagem de bolores e leveduras e BP (Ágar de Baird-Parker) para contagem de *Staphylococcus* spp, as placas de PCA (Plate Count Agar) e BP (Ágar de Baird-Prker) foram encubadas em estufa bacteriológica a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas, as contendo BDA (Batata-Dextrose-Ágar) foram encubadas em B.O.D a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ por um período de 5 dias.

Para a confirmação da presença de presença de *Staphylococcus aureus* procedeu-se teste de confirmação pela prova de coagulase, onde de 3 a 5 colônias características (pretas com halo transparente) foram coletadas com o auxílio de uma alça de platina e incubadas em caldo BHI em estufa bacteriológica a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, em seguida foram pipetados 0,3ml do cultivo de BHI para tubos estéreis contendo 0,3ml de plasma de coelho e caldo BHI (Brain Heart Infusion), e verificado a formação de coágulos para posterior confirmação.

As análises de coliformes totais e termotolerantes deu-se pela técnica de número mais provável (NMP), onde 1ml das diluições 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} foram pipetadas em tubos contendo 5ml de caldo lauril sulfato de sódio em uma série de três tubos por diluição para prova presuntiva da presença de coliformes totais. Em seguida, os mesmos foram incubados em banho maria a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas, sendo a positividade de cada tubo indicada pela formação de gás nos tubos de Durhan. A prova confirmativa para coliformes totais foi realizada pela repicagem dos tubos positivos e cultivo em caldo verde brilhante. As amostras positivas foram repicadas para tubos contendo caldo EC para a confirmação de coliformes termotolerantes e incubadas a $45 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas, a confirmação se deu pela formação de gás no tubo de Durhan.

Os experimentos foram conduzidos a partir de delineamento inteiramente casualizado com 3 tratamentos, sendo as amostras avaliadas em três repetições. Os resultados obtidos foram incluídos em planilha eletrônica, a partir da qual, elaboraram-se os gráficos. Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk. Após se constatar que os dados eram paramétricos, foi aplicado o teste ANOVA associado ao pós-teste T de Tukey objetivando a comparação dos diferentes grupos de tratamento com o controle e entre si. Todos os dados foram analisados considerando o nível de significância igual a 5% ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 2 aborda os valores encontrados nas análises de coliformes totais e termotolerantes assim como os resultados para o teste de *Staphylococcus* coagulase positiva para as amostra do grupo C1, F2 e F3.

Amostras	Coliformes 35°C	Coliformes 45°C	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva
C1	3,6 NMP/ g	<3,0 NMP/ g	*
	<3,0 NMP/g	<3,0 NMP/ g	*
	<3,0 NMP/g	<3,0 NMP/ g	*
F2	3,6 NMP/g	<3,0 NMP/ g	*
	<3,0 NMP/g	<3,0 NMP/ g	*
	<3,0 NMP/g	<3,0 NMP/ g	*
F3	<3,0 NMP/g	<3,0 NMP/ g	*
	<3,0 NMP/g	<3,0 NMP/ g	*
	3,6 NMP/g	<3,0 NMP/ g	*

C1= controle (sem revestimento), F2= cobertura com 2% de fécula, F3= cobertura com 3% de fécula. * não houve confirmação de coagulase.

Após as análises foram obtidos valores de coliformes a 35°C que variaram de <3,0 NMP/g a 3,6 NMP/g, em todos os grupos estudados os maiores valores encontrados foram de 3,6 NMP/g. Nas análises de coliformes a 45°C foi constatado ausência de tal micro-organismo pela não formação de gás nos tubos de Durham em todas as amostras avaliadas.

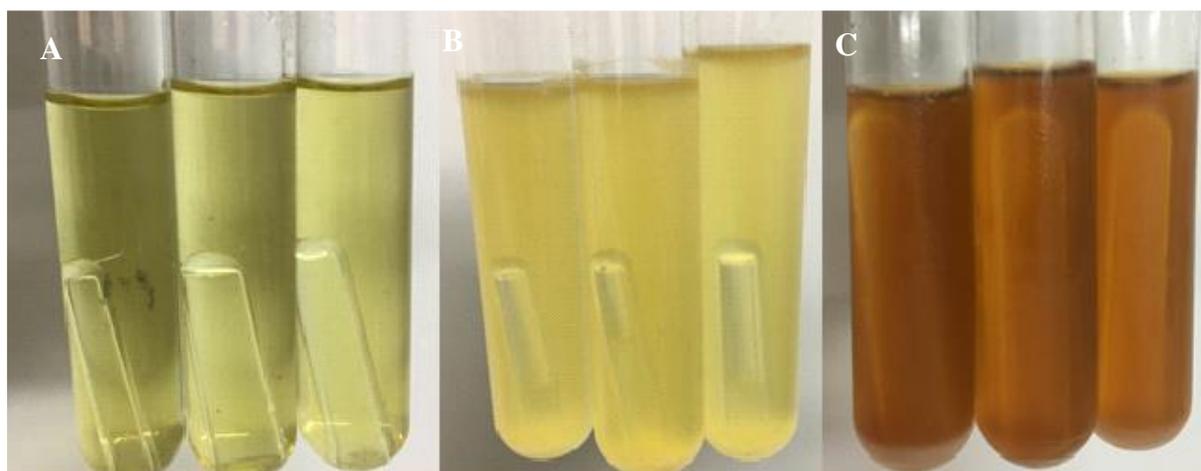


Imagem 1: Tubos de cultivo para análise pre-suntiva de coliformes a 35°C e coliformes a 45°C de amostras de queijo de coalho revestidos com coberturas a base de fécula de mandioca, imagem 1(A) tubos de coliformes a 35°C negativos, 1(B) tubos de coliformes a 35°C positivos e 1(C) tubos de coliformes a 45°C negativos. .

Fonte: acervo pessoal.

Os valores de coliformes totais e termotolerantes encontrados nos grupos tratamento F2 e F3 não apresentaram diferença aos valores do grupo controle C1, tais resultados possivelmente se dão pela utilização de leite previamente pasteurizado no processo de produção do queijo. Os coliformes são micro-organismos facilmente inativados por tratamento térmico e devido a isso, a aplicação da pasteurização prévia ao leite pode então ter sido responsável pela redução de tais micro-organismos (FORSYTHE, 2013). Vale ressaltar que foi utilizado leite pasteurizado como matéria para a produção dos queijos avaliados neste estudo.

Freitas (2015) afirma que o crescimento de coliformes em queijos é um indicativo da qualidade do leite utilizado em sua produção, visto que, a contaminação por tal micro-organismo pode ocorrer em diversas etapas, desde a obtenção da matéria prima até em etapas de processamento de queijo. A contaminação de queijos por coliformes deve ser evitada devido aos processos deteriorativos que os mesmos podem causar no alimento que o tornam impróprio para o consumo. Sendo assim é de suma importância a adoção de boas práticas de fabricação (BPF) afim de evitar a contaminação por tais micro-organismos. Os queijos do presente experimento foram produzidos de acordo com as BPF, além da utilização do leite tratado termicamente. As bancadas e utensílios foram higienizados antes do processamento e os manipuladores paramentados adequadamente, com luvas, bata, gorro e mascara. Tais cuidados são fundamentais para minimizar a contaminação microbiana, o que pode ser verificado a partir da ausência de coliformes totais e termotolerantes.

Valores semelhantes aos encontrados nos grupos analisados foi encontrado por Santos (2019) ao avaliar o uso de revestimento comestível a base de fécula de mandioca e óleo essencial na conservação de queijo minas frescal, tanto para coliformes a 35°C quanto para coliformes a 45°C (< 3 NMP/g), segundo o autor esses valores são reflexo de processamento com condições higiênico-sanitárias satisfatórias, visto que, o grupo de coliformes termotolerantes são micro-organismos indicadores de contaminação fecal em alimentos.

É bastante comum a contaminação de queijos por tais micro-organismos, Sousa et al: (2014) avaliado parâmetros microbiológicos de queijo coalho comercializados em estados da região Nordeste verificou que 31% das amostras analisadas apresentaram valores em desacordo para coliformes com os preconizados pela legislação virgente, Araujo (2017) encontrou valores de > 1100 NMP/g tanto para coliformes totais quanto para termotolerantes em 100% das amostras ao avaliar queijos do tipo coalho no agreste paraibano, o autor

reafirma que tais valores devem-se, possivelmente, a acontaminações ocorridas durante os processos de produção, armazenamento ou transporte inadequado do queijo, assim como devido a utilização de utensílios e equipamentos que não passaram por processos de higienização antes do uso.

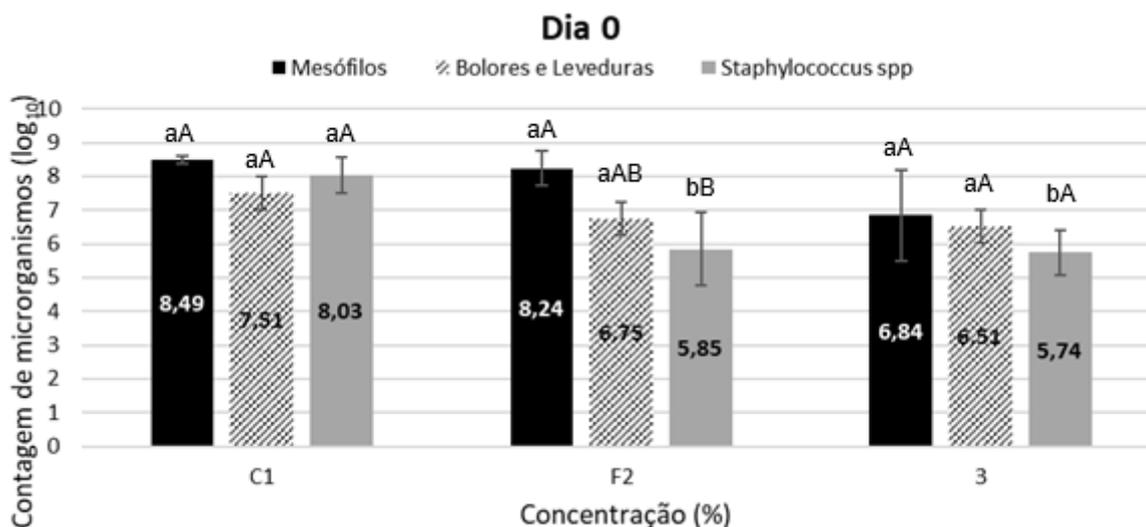


Figura 1: Média em log₁₀ das contagens de microrganismos no grupo controle (C1) e nos grupos revestidos com diferentes concentrações de fécula de mandioca (2% e 3%) no dia 0. Barras de erro representam o desvio padrão em cada tipo de microrganismo. Letras acima das barras representam diferenças estatísticas, onde maiúsculas indicam diferenças entre os tipos de microrganismos na mesma concentração e minúsculas indicam diferenças entre os mesmos microrganismos em diferentes concentrações.

Na figura 1 é possível observar as médias das contagens realizadas do dia 0 de análise (com 24 horas), dos grupos de micro-organismos estudados. No grupo C1 as médias variaram de 8,49 log₁₀ UFC/g, 7,51 log₁₀ UFC/g e 8,03 log₁₀ UFC/g para mesófilos, bolores e leveduras e *Staphylococcus* spp respectivamente. No grupo F2 as médias foram de 8,24 log₁₀ UFC/g, 6,75 log₁₀ UFC/g e 5,85 log₁₀ UFC/g para os grupos de mesófilos, bolores e leveduras e *Staphylococcus* spp respectivamente. No grupo F3 as médias das contagens variaram de 6,84 log₁₀ UFC/g, 6,51 log₁₀ UFC/g e 5,74 log₁₀ UFC/g para mesófilos, bolores e leveduras e *Staphylococcus* spp respectivamente.

Ja no primeiro dia de análise pode-se observar diferença estatística significativa nas médias das contagens de *Staphylococcus* spp nos grupos F2 e F3 quando comparados ao grupo C1, mostradas pelas letras minusculas. Os grupos tratados apresentaram uma redução de mais de 2,00 log₁₀ UFC/g em relação ao grupo C1. O efeito antimicrobiano demonstrado nos resultados da figura 1 é possivelmente resultado da capacidade que o revestimento

biopolimérico de fécula de mandioca possui de formar uma atmosfera modificada ao recobrir o alimento. Autores como Santos (2019) avaliando o revestimento a base de fécula de mandioca em queijo minas frescal e Costa (2013) avaliando revestimentos a base de fécula de mandioca reforçados com nanocelulose atribuem esse efeito devido sua habilidade de formar uma barreira a umidade que diminui também a permeabilidade ao oxigênio, o que impede o contato do alimento com o oxigênio externo, dificultando assim o metabolismo de microorganismos.

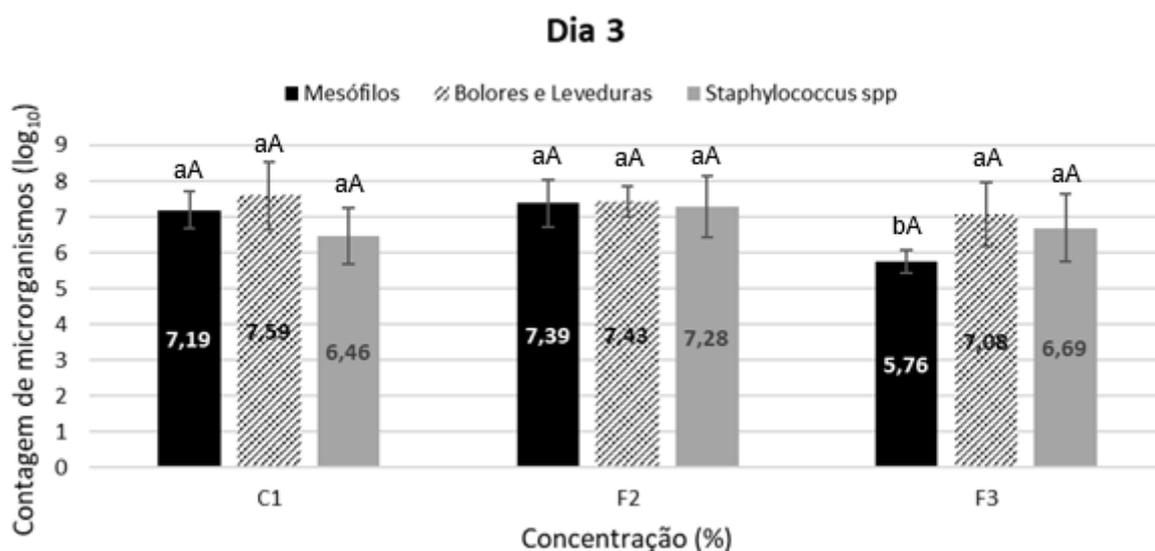


Figura 2: Média em \log_{10} das contagens de microrganismos no grupo controle (C1) e nos grupos revestidos com diferentes concentrações de fécula de mandioca (2% e 3%) no dia 3. Barras de erro representam o desvio padrão em cada tipo de microrganismo. Letras acima das barras representam diferenças estatísticas, onde maiúsculas indicam diferenças entre os tipos de microrganismos na mesma concentração e minúsculas indicam diferenças entre os mesmos microrganismos em diferentes concentrações.

A figura 2 apresenta um gráfico de colunas com as médias e desvios padrões das contagens de mesófilos, bolores e leveduras e *Staphylococcus* spp dos grupos C1, F2 e F3 do segundo dia de análise (dia 3), os valores encontrados foram de respectivamente 7,19 \log_{10} UFC/g, 7,59 \log_{10} UFC/g e 6,46 \log_{10} UFC/g para mesófilos, bolores e leveduras e *Staphylococcus* spp no grupo C1, 7,39 \log_{10} UFC/g, 7,43 \log_{10} UFC/g e 7,28 \log_{10} UFC/g de mesófilos, bolores e leveduras e *Staphylococcus* spp para o grupo F2 e 5,76 \log_{10} UFC/g, 7,08 \log_{10} UFC/g e 6,69 \log_{10} UFC/g em mesófilos, bolores e leveduras e *Staphylococcus* spp para o grupo F3.

No segundo dia de análise observa-se que apenas a contagem de mesófilos do grupo F3 apresentou valores estatisticamente diferentes quando comparado ao grupo C1. Devido aos mesófilos avaliados neste trabalho possuírem metabolismo aeróbico (ICMSF, 1984) a barreira

ao oxigênio formada pelo revestimento com 3% de fécula de mandioca diminuiu o contato do alimento com o oxigênio externo, o que possivelmente causou uma redução no metabolismo de tal micro-organismo diminuindo assim suas contagens em mais de 1,00 log₁₀ UFC/g quando comparado ao grupo C1.

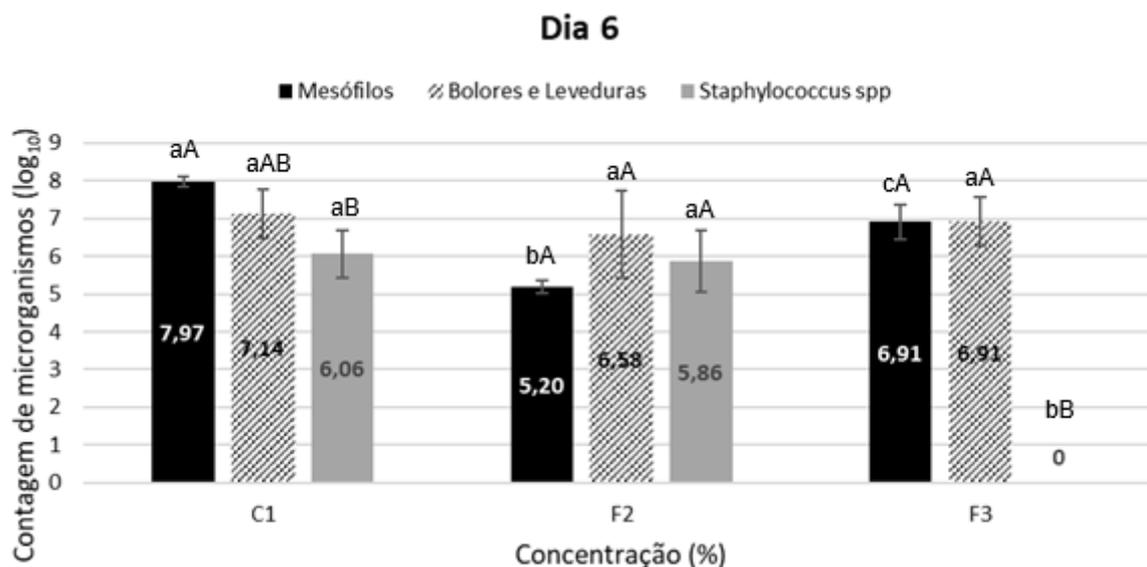


Figura 3: Média em log₁₀ das contagens de microrganismos no grupo controle (C1) e nos grupos revestidos com diferentes concentrações de fécula de mandioca (2% e 3%) no dia 6. Barras de erro representam o desvio padrão em cada tipo de microrganismo. Letras acima das barras representam diferenças estatísticas, onde maiúsculas indicam diferenças entre os tipos de microrganismos na mesma concentração e minúsculas indicam diferenças entre os mesmos microrganismos em diferentes concentrações.

No terceiro dia de análise (dia 6) os valores médios das contagem de mesófilos, bolores e leveduras e *Staphylococcus* spp do grupo C1 foram de respectivamente 7,97 log₁₀ UFC/g, 7,14 log₁₀ UFC/g e 6,06 log₁₀UFC/g, já para o grupo F2 as contagens foram de 5,20 log₁₀ UFC/g, 6,58 log₁₀ UFC/g e 5,86 log₁₀ UFC/g para mesófilos, bolores e leveduras e *Staphylococcus* spp respectivamente, para o grupo F3 os valores foram de 6,91 log₁₀ UFC/g, 6,91 log₁₀ UFC/g e 0,00 log₁₀ UFC/g para mesófilos, bolores e leveduras e *Staphylococcus* spp respectivamente.

As letras sobre as médias do dia 6 demonstram que houve redução significativa no grupo de micro-organismos mesófilos do F2 e F3 quando comparadas ao C1, com reduções de quase 3,00 log₁₀ UFC/g para o grupo F2 e mais de 1,00 log₁₀ UFC/g para o grupo F3. Quando comparadas as médias de *Staphylococcus* spp observa-se diferença apenas no grupo F3, onde o revestimento inibiu o crescimento de tal bactéria. Tais reduções do dia 6 são

possivelmente explicadas pelas discussões anteriores, onde a capacidade do revestimento de impedir o contato do alimento com o ambiente externo pela formação de uma atmosfera modificada e pela formação da barreira ao oxigênio, dificultou o metabolismo destes micro-organismos, afetando assim em seu crescimento no alimento.

Segundo Silva (2007) o gênero *Staphylococcus* é formado por bactérias anaeróbias facultativas porém se desenvolve melhor em condições aeróbias, devido a isto, tal barreira formada pelas coberturas poliméricas pode ter auxiliado na inibição de estafilococos. Vale ressaltar que todas as colônias avaliadas de todos os grupos que obtiveram crescimento foram negativo para o teste da coagulase (observar tabela 1), confirmando assim que tal bactéria não é *Staphylococcus aureus*.

Essas bactérias são de grande importância alimentar visto que, estão relacionadas a diversos surtos de intoxicações alimentares devido a produção de toxinas (MAGALHÃES, 2016). O gênero *Staphylococcus aureus* esta presente na microbiota da pele e mucosas de mamíferos e aves, o que torna os manipuladores de alimentos os principais veículos de contaminação, essas bactérias produzem toxinas resistentes a temperatura assim como a enzimas gástricas presente no trato gastrointestinal de humanos, podendo permanecer no alimento mesmo após processamentos, causando possíveis surtos de intoxicação (SOUSA et al; 2018).

Na análise de bolores e leveduras não foi observado diferença significativa entre as contagens dos grupos F2 e F3 quando comparadas ao grupo C1. Molina et al. (2018) afirma que os fungos são micro-organismos menos exigentes que as bactérias por conseguirem se desenvolver em ambientes menos favoráveis como em alimentos com baixa atividade de água e pH baixo, essas características os tornam mais propensos ao desenvolvimento em ambientes menos favoráveis, então, possivelmente tal característica permitiu o desenvolvimento desses micro-organismos mesmo com a atmosfera modificada criada pelo revestimento.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As coberturas comestíveis a base de fécula de mandioca a 2% e 3% demonstraram capacidade de diminuir o crescimento de bactérias patogênicas e deteriorantes em queijos coalho. Assim para proporcionar maior embasamento sobre os mecanismos de atuação destes revestimentos novas pesquisas sobre coberturas comestíveis biopoliméricas devem ser estimuladas.

REFERÊNCIAS

- ALCÂNTARA, E, M, D. MENDES, J, U, L. Desenvolvimento de um biopolímero de fécula de mandioca para isolamento térmico. HOLOS, Ano 34, Vol. 07. 2018.
- ARAÚJO, R, M, S. Pesquisa de coliformes totais e coliformes termotolerantes em queijos tipo coalho produzidos com leite cru na região do Agreste Paraibano. Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Paraíba. Areia, 2017.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, Brasília –DF, 18 de setembro de 2003.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. Secretaria de defesa Agropecuária Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, mar. 1996.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa Nº 30, de 26 de junho de 2001. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Manteiga da Terra ou Manteiga de Garrafa; Queijo de Coalho e Queijo de Manteiga. Diário Oficial da União, 16/07/2001, Seção 1, Página 1. Brasília: 2001.
- CEPEA - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada/ USP. Produção e consumo de fécula de mandioca no Brasil. Disponível em: <https://www.cepea.esalq.usp.br/br/opiniaocpepa/producao-e-consumo-de-fecula-de-mandioca-no-brasil.aspx>. Acesso em: 04 out. 2019.
- COSTA, S. R. Filmes de fécula de mandioca e glicerol, reforçados com nanocelulose e ativados com Própolis vermelha. 2013. 125 f., il. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos)– Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.
- CRUZ, W, F. Aplicação e avaliação de biopolímeros de amido e gelatina como revestimento em materiais de embalagens. Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Doutor em Tecnologia de Alimentos. Campinas, 2018.
- FAI, A, E, C. STAMFORD, T, C, M. STAMFORD, T, L, M. Potencial biotecnológico de quitosana em sistemas de conservação de alimentos. Revista Iberoamericana de Polímeros, v. 9, n. 3, p. 435-451, 2008.

FARKHOURI, F, M. FONTES, L, C, B. GONSALVES, P, V, M. MILANEZ, C, R. STEEL, C, J. COLLARES-QUEIROZ, F, P. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 27(2): 369-375, abr.-jun. 2007.

FAKHOURI, F, M. MARTELLI, S, M. CAON, T. VELASCO, J, I. MEI, L, H, I. Edible films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated Red Crimson grapes. Postharvest Biology and Technology .V.109, p. 57-64. 2015.

FORSYTHE, STEPHEN J. Microbiologia da segurança dos alimentos. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FRAZIER, R. A. Química de alimentos. In: CAMPBELL-PLATT, G. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Barueri, SP: Manole, 2015.

FREIRE, B, C, F. Aplicação de coberturas comestíveis a base de fécula de mandioca, cera de abelha e extrato de romã na conservação de queijo tipo coalho. Dissertação apresentada ao Mestrado em Ambiente, Tecnologia e Sociedade do Programa de Pós-Graduação em Ambiente, Tecnologia e Sociedade da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ambiente, Tecnologia e Sociedade. Mossoró. 2019.

FREIRE, F, C, O. VIEIRA, I, G, P. GUEDES, M, I, F. MENDES, F, N, P. Micotoxinas: Importância na Alimentação e na Saúde Humana e Animal. Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 110. 48.p 2007.

FREITAS, M.P. Avaliação microbiológica de queijos artesanais produzidos na cidade de Taió, Santa Catarina. Saúde & Meio Ambiente, Santa Catarina, v. 4, n. 2, p. 103-114, 2015.

GOMES, A, F. FERREIRA, M, C, M. GOZZO, A, M. Avaliação do efeito do sorbitol e do glicerol nas características físicas, térmicas e mecânicas de hidrogel de amido de milho reticulado com glutaraldeído. XI Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica. Unicamp. Campinas. São Paulo, 2015.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Microorganismos de los alimentos: técnicas de análisis microbiológico. Zaragoza: Acribia,. 431p. 1984.

JAY, J, M. Microbiologia de Alimentos. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

MADIGAN, M, T. MARTINKO, J, M. BENDER, K, S. BUCKLEY, D, H. STAHL, D, A. Microbiologia de Brock. 16 ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MAGALHÃES, S, I, A. Avaliação da qualidade microbiológica de queijo de produção local comercializado no Chimoio, Província de Manica. Monografia apresentada a Universidade Católica de Moçambique a Faculdade de Engenharia em Chimoio como requisito para obtenção do grau de Licenciatura em Engenharia Alimentar. Chimoio, 2016.

MAIESKI, L, M. Os principais microrganismos patogênicos que afetam a qualidade do leite. Trabalho de conclusão de curso, apresentado como requisito para a obtenção de título de Especialista Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul, 2011.

MOLINA, B, P. PAULO, A, S. RUELA, C, H. NOBRE J, A, S. CÓRDOBA, G, M, C. OLIVEIRA, R, C, F. Contaminação microbiológica em alimentos proteicos e energético para atletas. Revista Brasileira de Nutrição Esportiva, São Paulo. v. 12. n. 73. p.565-573. Set./Out. 2018.

MOTTIN, V. D.; SILVA, L. L.; ROCHA, J. N.; TEIXEIRA NETO, M. R. Quantificação e correlações de parâmetros microbiológicos em queijos minas frescal no sudoeste da Bahia. Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR, Umuarama, v. 19, n. 3, p.137-142, jul./set. 2016.

NASSU, R, T. MACEDO, B, A, LIMA, M, H, P. Queijo de coalho. Embrapa Informação Tecnológica. 2006.

OLIVEIRA, T, V. SASAKI, F, F, C. NEPOMUCENO, C, F. SILVA, S, O. Fécula de mandioca, como revestimento, para conservação do mamão. VII Simpósio do Papaya Brasileiro Produção e Sustentabilidade Hídrica. Vitória – ES. 2018.

PEIXOTO, T, S. RESCH, S. RESÍDUOS DE MANDIOCA: um estudo sobre a destinação da massa de mandioca pelas fecularias brasileiras. II Encontro Nacional de Gestão Desenvolvimento e Inovação (II EIGEDIN), 2018. Disponível em: https://www.seer.ufms.br/index.php/EIGEDIN/article/viewFile/7327/pdf_98. Acesso em: 20, out, 2019.

PEREIRA, R, B, M. FONTE, R, A, B. BARROS, D, M. MACHADO, E, C, L. OLIVEIRA, M, G. MOURA, D, F. Quitosana em queijo Minas frescal: ação antibacteriana sob cepa patogênica e nos atributos sensoriais. Braz. J. Hea. Rev., Curitiba, v. 1, n. 2, p. 342-363, oct./dec. 2018.

SANTANA, R. F. et al. Qualidade microbiológica de queijo coalho comercializado em Aracaju, SE. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v.60, n. 6, p. 1517-1522, 2008.

SANTOS, D, S. CALAÇA, P, R, E. PORTO, A, L, F. SOUZA, P, R, E. CAVALCANTI, M, T, H. Caracterização parcial probiótica e molecular de bactérias ácido lácticas isoladas de queijo de coalho na cidade de Arcoverde – Pernambuco. Iniciação científica CESUMAR, v.21, n.1, p. 7-14. 2019.

SANTOS, E, V. CESAR, E, L. VIRGINIO, G, V. NETO, J, F. SANTOS, C, C, L. SOUSA, P, E. Influência do revestimento comestível à base de fécula de mandioca e óleo essencial na conservação de queijo minas frescal. Revista Princípios, N° 45, p. 76-89. João Pessoa, 2019.

SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. Semina: Ciências Agrárias, v. 28, n. 1, p. 79-88, 2007.

SILVA, A, M. Filmes biodegradáveis de amido contendo compostos ativos encapsulados e nanopartículas: uma revisão. Monografia apresentada na Universidade Federal do Rio Grande do Sul para obtenção do grau em bacharel em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Porto Alegre, 2016.

SILVA, F, R. SANTANA, C, M. MELO, W, F. TALABERA, G, G. SARMENTO, W, E. SOBRINHO, W, S. SÁ, J, A. MACHADO, A, V. Conservação e controle de qualidade de queijos: Revisão. PUBVET v.11, n.4, p.333-341, Abr. 2017.

SILVA, N.et al. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 3. ed. São Paulo: Varela, 2007.

SOUSA, A, Z, B. ABRANTES, M, R. SAKAMOTO, S, M. SILVA, J, B, A. LIMA, P, O. LIMA, R, N. ROCHA, M, O, C. PASSOS, Y, D, B. Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em estados do nordeste do Brasil. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.81, n.1, p. 30-35, 2014.

SOUSA, T, M, G.; GOMES, L, M, D.; CARVALHO, J, T, F.; BARBOSA, F, R.; PEREIRA, D. E. Gênero *Staphylococcus* spp. Presença e transmissão via manipuladores de alimentos. International Journal of Nutrology. v. 11, S 01. 2018

SOUZA, N.B. Ação antimicrobiana de bacteriocina produzida por *Lactobacillus sakei*: uma análise de resistência e aplicação em queijo minas frescal. 93p.2017. TCC (Engenharia de Alimentos). Universidade Federal do Pampa, Bagé, 2017.