

APLICAÇÃO DE REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS NA QUALIDADE E CONSERVAÇÃO DE QUEIJO COALHO

DANIEL BATISTA MEIRA JÚNIOR¹
SOLANGE DE SOUSA²
GILMAR FREIRE DA COSTA³

No presente trabalho, objetivou-se desenvolver e aplicar revestimentos comestíveis em queijo de coalho e avaliar a qualidade físico-química, microbiológica e microscópica. O delineamento estatístico foi o Inteiramente Casualizado num fatorial 5x4 com 4 repetições, sendo 5 tratamentos: (controle - queijo sem revestimento; queijo revestido com proteína isolada de soja + óleo essencial de manjeriço; fécula de mandioca + óleo essencial de manjeriço; queijo revestido com proteína isolada de soja + quitosana e fécula mandioca + quitosana). Foram preparadas as soluções filmogênicas e os queijos foram imersos por 30 segundos nas soluções. O período de armazenamento dos queijos foi de 21 dias em condições de refrigeração (5 ± 1 °C, UR% 50 ± 2). As análises físico-químicas e microbiológicas foram realizadas nos tempos 1, 7, 14 e 21 dias. Os resultados para pH e umidade não apresentam efeito significativo ($p\leq 0.05$) pelo teste de Tukey. O resultado para coliformes termotolerantes se mostrou em conformidade com os padrões estabelecidos pela legislação brasileira. Em todos os tratamentos, houve a presença de *Estafilococos* coagulase positiva durante o armazenamento. Para pesquisa de *Salmonella* sp., houve ausência em 25 gramas em todos os tratamentos. Filmes e revestimentos comestíveis podem melhorar a vida de prateleira e qualidade dos alimentos, servindo como barreira à transferência de umidade, melhor aspecto visual, e redução da contaminação microbiológica.

PALAVRAS-CHAVE: EMBALAGEM ATIVA; ÓLEO ESSENCIAL; QUITOSANA; ARMAZENAMENTO; VIDA DE PRATELEIRA.

- 1 MSc. em Tecnologia Agroalimentar, Universidade Federal da Paraíba. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Agroalimentar, Campus Universitário III, s/n – Cidade Universitária, Bananeiras/PB, Brasil (e-mail: danielcgbatista@gmail.com)
- 2 Docente Associado do Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial, do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA), da Universidade Federal da Paraíba, Campus Universitário III, s/n – Cidade Universitária, Bananeiras/PB, Brasil (e-mail: solange_ufpb@yahoo.com.br)
- 3 Bacharel em Agroindústria, Universidade Federal da Paraíba, Campus Universitário III, s/n – Cidade Universitária, Bananeiras/PB, Brasil (e-mail: gilmarfreiredacosta@gmail.com)

1 INTRODUÇÃO

Conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Coalho, este é definido como aquele que se obtêm por coagulação do leite usando coalho ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácteas selecionadas e comercializado normalmente com até 10 (dez) dias de fabricação (BRASIL, 2001).

O queijo de coalho é o mais tradicional e um dos mais fabricados na região Nordeste do Brasil. O queijo de coalho é considerado como um patrimônio da população nordestina, desperta o interesse dos agentes promotores do desenvolvimento, dos produtores, de instituições públicas e privadas e gestores públicos (MENEZES, 2011).

Os alimentos de origem animal são produtos altamente perecíveis. Nesse argumento, desenvolver formas de preservação e conservação que sejam eficientes, econômicas e de baixo custo é um grande desafio. Visando a manutenção da qualidade, a durabilidade do produto e a segurança microbiológica, novos métodos ou técnicas de conservação vêm sendo desenvolvidos para esse tipo de alimento.

Os revestimentos e filmes comestíveis vêm ganhando importância, uma vez que conferem resposta a várias pesquisas relacionadas com o armazenamento dos produtos alimentares e surgem como uma alternativa para diminuir os efeitos prejudiciais atribuídos pelo processamento dos alimentos. Os biopolímeros mais utilizados na elaboração de filmes e coberturas comestíveis são os polissacarídeos, proteínas, lipídios, resinas, ou a combinação deles com a adição de plasticizantes e surfactantes (KANG e SEA, 2010; SANTACRUZ, RIVADENEIRA, CASTRO, 2015).

O principal papel de uma cobertura comestível é atuar como uma barreira à perda de umidade, controlar trocas gasosas e evitar contaminações microbiológicas e químicas. Devem apresentar certas peculiaridades como ser invisíveis, terem aderência suficiente para não serem facilmente removidos no manuseio e não introduzirem alterações no gosto (HANSTMANN, 2017).

Na produção de queijos, por exemplo, os conservantes são adicionados diretamente na massa ou em alguns casos o produto é imerso em uma solução antimicrobiana. Modernamente se propõe que o agente antimicrobiano esteja no próprio envoltório e seja liberado ao longo do tempo, de modo a preservar o produto e aumentar o que se denomina vida de prateleira (GALLO NETO, 2009). Vários pesquisadores têm relatado que filmes e revestimentos antimicrobianos são utilizados para vários tipos de queijos (INCORONATO et al., 2011; DI-PIERRO et al., 2011; PAGANI et al., 2012).

Os revestimentos comestíveis, tendo o amido como biopolímero para sua formação, começam a ser estudados de forma mais intensa. A fécula de mandioca tem sido frequentemente testada como matéria-prima para esse fim, em função da sua transparência, boa resistência às trocas gasosas, propriedades filmogênicas e baixo custo (KOKOSZKA et al., 2010; SOARES, 2012).

Dentre as proteínas utilizadas na indústria de alimentos, a proteína isolada de soja é a que está em larga expansão atualmente. Filmes e coberturas de proteínas possuem a capacidade de atuarem como barreira semipermeável à umidade, gases e compostos aromáticos, além de controlar transferência de massa em sistemas alimentícios (LIMPAN et al., 2010). A proteína isolada de soja é digerível e nutritiva, e tem mostrado excelente propriedade de barreira ao oxigênio (SKURTYS et al., 2010).

A identificação dos compostos antimicrobianos mais ativos presentes nos óleos essenciais é complexa, tendo em vista que, dependendo do óleo, pode haver a presença de mais de 45 componentes diferentes (ESPINA et al., 2011). Segundo Gonzales-Aguilar et al. (2008), os óleos essenciais possuem ação antibacteriana que varia de acordo com seu composto ativo individual, tendo um enorme potencial como conservantes em alimentos. Montes et al. (2013) afirmam que os óleos essenciais são substâncias naturais que ganham destaque como agentes antimicrobianos, sendo associados às embalagens para alimentos.

Dentre os óleos essenciais conhecidos que possuem potencial em atividade antimicrobiana, podem-se citar os de alho, canela, capim cidreira, cravo, manjerona, orégano, alecrim, manjeriço,

que podem ser testados em embalagens ativas, filmes e em revestimentos para alimentos (LÚCIO et al., 2011). Vários estudos têm mostrado a atividade antimicrobiana do óleo essencial extraído do manjeriço contra micro-organismos patogênicos (MARTINS, 2010).

A quitosana é um biopolímero com boa habilidade antimicrobiana, pois é capaz de inibir o crescimento de uma ampla variedade de fungos, leveduras e bactérias, além de ser um polissacarídeo capaz de formar filme. Estudos revelam que as propriedades antibacterianas e a capacidade de formação de película de quitosana fazem dela uma escolha ideal para ser incorporadas aos revestimentos, pois melhoram a capacidade de armazenamento de alimentos perecíveis e podem melhorar as propriedades físico-químicas desfavoráveis, como a baixa resistência mecânica e a permeabilidade ao vapor de água (DUTTA et al., 2009; BOTREL et al., 2010; ANTONIOU et al., 2015).

Objetivou-se com o presente trabalho desenvolver e aplicar revestimentos comestíveis com quitosana e óleo essencial de manjeriço em queijo de coalho e avaliar a qualidade físico-química, microbiológica e microscópica.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi conduzida na Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Campus III, no Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias (CCHSA), Bananeiras-Paraíba, Brasil.

Os queijos utilizados na pesquisa foram adquiridos no Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Laticínios (PDLAT) do CCHSA/UFPB, tendo sido produzidos um dia antes do início da aplicação dos revestimentos.

2.1 PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES E AMOSTRAGEM

Os queijos foram revestidos utilizando quatro tipos de revestimentos, em quatro amostras de queijo para cada revestimento. Essas amostras deram origem aos tratamentos denominados: queijo sem revestimento (controle); queijo revestido com proteína isolada de soja + óleo essencial de manjeriço; queijo revestido com fécula de mandioca + óleo essencial de manjeriço; queijo revestido com proteína isolada de soja + quitosana; e queijo revestido com fécula de mandioca + quitosana.

Para a elaboração do revestimento de fécula de mandioca, foi preparada uma solução de 500 mL (3% p/v) em água destilada. Essa solução foi aquecida, mexendo constantemente, até atingir 70 °C durante 20 minutos. Após abaixamento da temperatura a 37 °C, adicionou-se o agente plastificante glicerina (2% p/v), seguida da adição de 1% do óleo essencial de manjeriço ou 1% de quitosana (100 mL); a quitosana usada (5 g) com grau de desacetilação de 85% foi solubilizada em 100 mL de ácido acético glacial a 0,4% (v/v).

Na elaboração do revestimento à base proteína isolada de soja, foi preparada uma solução de 500 mL (4% p/v) em água destilada. A solução foi aquecida a 80 °C durante 45 minutos em constante agitação; após abaixamento da temperatura para aproximadamente 37 °C, foi adicionado à glicerina (2% p/v), seguida de 1% de quitosana (100 mL) ou 1% de óleo essencial de manjeriço.

Os queijos foram cortados, assepticamente, em amostras de 250 g, e foram imersos nas soluções por 30 segundos a 36 ± 1 °C. Após a imersão, as amostras passaram por drenagem para retirar o excesso da solução e, em seguida, foram armazenadas a 5 °C por 20 horas em refrigerador. Após a redução da umidade do revestimento, os queijos revestidos e controle foram envolvidos em filme de policloreto de vinila (PVC) e armazenada sob refrigeração. O filme flexível de PVC foi utilizado como embalagem secundária, com a finalidade de proteger as amostras de queijo contra possíveis contaminações.

Para realização do estudo de vida de prateleira, o período de armazenamento dos queijos foi de 21 dias em condições de refrigeração (5 ± 1 °C) e Umidade Relativa de $50 \pm 2\%$ em refrigerador doméstico, sendo avaliados no tempo 1, 7, 14 e 21 dias.

2.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

2.3.1 Umidade

A umidade foi determinada pelo método gravimétrico com o emprego de estufa, que se baseia na perda de peso do material quando submetido a aquecimento de 105 °C, até atingir peso constante (AOAC, 2005).

2.3.2 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Calibrou-se o pHmetro com soluções tampão com pH 4 e 7. Pesaram-se 10 g da amostra do queijo e transferiu-se para um béquer de 100 mL contendo água (50 mL), esmagando-se a amostra com o auxílio de um bastão de vidro até homogeneização completa, determinando assim o pH da amostra (IAL, 2008).

2.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Gestão e Tecnologia Agroindustrial, do CCHSA/UEPB. Todas as análises foram feitas em triplicata utilizando quatro diluições sucessivas e seriadas (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4}). A unidade analítica para as análises de coliformes totais (35 °C) e termotolerantes (45 °C) e *Estafilococos* coagulase positiva foram 25 g retirados assepticamente da amostra dos queijos e transferidos para um agitador estéril com 225 mL de água peptonada 0,1% esterilizada, utilizada para fazer as diluições decimais seriadas subsequentes. Essas diluições foram preparadas em tubos contendo 9 mL de água peptonada 0,1%, utilizando-se a técnica de transferência de 1 mL da amostra agitada anteriormente em equipamento Stomacher por dois minutos.

As análises microbiológicas foram realizadas seguindo as recomendações da RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001), utilizando a metodologia preconizada pela American Public Health Association (APHA, 2001).

2.4.1 Contagem de coliformes totais e termotolerantes

Para a determinação de coliformes totais, utilizou-se a técnica de tubos múltiplos, cujos resultados foram expressos pelo Número Mais Provável (NMP/g). O meio utilizado foi o caldo Lauril sulfato Triptose, no qual os tubos foram incubados a 35 °C durante 48 horas.

A partir da leitura da combinação dos tubos positivos (com turvação e produção de gás nos tubos de Durham) e negativos (sem as citadas reações), foi feita a conversão utilizando a tabela de Hoskins. Fez-se a confirmação em Caldo Lactosado Verde Bile 2% Brilhante nas mesmas condições de tempo e temperatura.

Os coliformes termotolerantes foram quantificados utilizando-se a técnica dos tubos múltiplos, com Caldo *Escherichia coli* (EC). Nos tubos positivos para coliformes totais, fizeram-se as repicagens da cultura para tubos com Caldo EC. Após a semeadura incubaram-se os tubos a 44,5 °C por 18 a 24 horas, em banho-maria, com séries de três tubos para cada diluição. A partir da leitura da combinação entre os tubos positivos (com turvação e produção de gás nos tubos de Durham) e negativos (sem produtos da reação), foi determinado o NMP/g para coliformes termotolerantes.

2.4.2 Determinação de *Salmonella* sp.

O procedimento utilizado foi dividido em quatro etapas. Na etapa de pré-enriquecimento, 25 g da amostra de cada queijo foram colocadas em 225 mL de água tamponada pH 6,8 e incubadas por 18-20 horas a 35 °C. Em seguida, na etapa do enriquecimento seletivo, volumes de 1,0 e 0,1 mL foram transferidos para dois diferentes meios de enriquecimento, caldo Rappaport-Vassilidis (RV)

e caldo tetrionato (TT), contendo 10 mL em cada tubo, e incubados por 24 horas a 35 °C e 43 °C, respectivamente. Após esse procedimento, na etapa de plaqueamento seletivo diferencial, fez-se o plaqueamento em meio de cultura Agar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) e Ágar Bismuto Sulfato (BS) durante 18 a 24 horas, incubando-se os tubos a 35 °C. Havendo colônias características, estas foram selecionadas para os testes de identificação bioquímica. Para tanto, cada colônia foi repicada em ágar não seletivo (36 °C/18 a 24 h). O resultado foi expresso como Ausência ou Presença de *Salmonella sp.* em 25 g. Nessa pesquisa não houve crescimento de colônias típicas de *Salmonella*.

2.4.3 Estafilococos coagulase positiva

Para realização da pesquisa de Estafilococos coagulase positiva, foi realizada a técnica de plaqueamento por superfície em placas de Petri contendo de 15 a 20 mL de ágar Plate Count Agar, semeando-se 0,1 mL de cada diluição das amostras dos tubos de ensaio contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (CLST), incubando-se as placas a 35° C /24 h. Realizou-se a leitura das placas que continham entre 15 e 150 colônias.

Para o teste bioquímico de coagulase positiva a partir dos tubos contendo plasma de coelho, transferiu-se uma alçada das colônias típicas de Estafilococos para eles; em seguida, os tubos foram incubados em estufa a 35 ° C /24 h; após esse período observou-se ocorrência de coagulação (teste positivo) ou não coagulação (teste negativo).

2.5 ANÁLISE DE MICROGRAFIA

A estrutura dos revestimentos foi verificada aos 21 dias de armazenamento por meio de microscópio estereoscópio (PHYSIS), utilizando aumento de 50x. Para visualização dos revestimentos foi aplicada solução de Iodo a 2%.

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O delineamento experimental foi o de blocos casualizados e os dados obtidos analisados através do fatorial 5x4, sendo 5 tratamentos e 4 períodos de armazenamento (1, 15, 30 e 45 dias) com 4 repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), comparando as médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro ($p \leq 0,05$), através do programa SAS® (2013), licenciado para o CCHSA/UFPB.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

O conhecimento sobre as características físico-químicas, como, por exemplo, pH e umidade do queijo de coalho, é de grande importância já que estes influenciam diretamente na qualidade final do queijo (GOMES et al., 2013).

Na **Tabela 1** apresentam-se os resultados do pH das amostras dos queijos de coalho revestidos. Observou-se que os efeitos dos tratamentos, do tempo de estocagem e da interação entre eles não foram significativos pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$), havendo somente diferença significativa em nível de 1% de probabilidade pelo Teste F, durante os 21 dias de armazenamento no queijo não revestido, obtendo valores de pH 6,39 a 6,13 e 6,39 a 6,70 para o 1° dia de armazenamento em todos os tratamentos.

TABELA 1 – VALORES MÉDIOS DO PH DOS QUEIJOS DE COALHO EM FUNÇÃO DOS REVESTIMENTOS E DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO DURANTE 21 DIAS

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)				Média	DP	Fcal
	1	7	14	21			
T1(Controle)	6,39	6,27	6,13	6,18	6,24	0,114	2,94**
T2	6,57	6,47	6,42	6,30	6,44	0,112	0,06 ^{ns}
T3	6,68	6,48	6,44	6,38	6,49	0,13	0,11 ^{ns}
T4	6,66	6,43	6,28	6,17	6,38	0,212	0,29 ^{ns}
T5	6,70	6,48	6,24	6,18	6,40	0,238	0,14 ^{ns}
Média	6,6	6,42	6,30	6,24	6,39		
DP	0,127	0,089	0,129	0,093			
Fcal	4,73**	0,03 ^{ns}	0,06 ^{ns}	0,06 ^{ns}			1,06 ^{ns}

**significativo ao nível de 1% de probabilidade; ^{ns} não significativo. DP= Desvio padrão. Fcal= F calculado.

T1: queijo sem revestimento; **T2:** queijo revestido com proteína isolada de soja + óleo essencial de manjeriço; **T3:** queijo revestido com fécula de mandioca + óleo essencial de manjeriço; **T4:** queijo revestido com proteína isolada de soja + quitosana; **T5:** queijo revestido com fécula mandioca + quitosana.

Em pesquisa realizada por Martins et al. (2010), o pH inicial da amostra de queijo ricota sem revestimento foi de 5,47 e revestido foi de 5,6. A análise do potencial hidrogeniônico é relevante em queijos por influenciarem a textura, microbiota e maturação, em que ocorrem reações químicas catalisadas por enzimas provindas do coalho e da carga microbiana, que dependem do pH (SOUSA et al., 2014).

Os resultados de umidade das amostras dos queijos coalho revestidos estão representadas na **Tabela 2**. Verifica-se que nesse parâmetro só houve diferença significativa no 1º dia para todos os tratamentos, e tempo de armazenamento para o controle em nível de 1% de probabilidade pelo teste F. Apesar de os resultados apresentarem menor teor de umidade em todos os tratamentos, nos 21 dias de armazenamento, não houve diferença nem interação entre os revestimentos e tempo de armazenamento ($p \leq 0,05$).

TABELA 2 – VALORES MÉDIOS DE UMIDADE DOS QUEIJOS DE COALHO EM FUNÇÃO DOS REVESTIMENTOS E DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO REFRIGERADO

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)				Média	DP	Fcal
	1	7	14	21			
T1(Controle)	49,83	48,21	46,33	44,92	47,32	2,147	4,01**
T2	50,28	48,81	47,58	46,23	48,22	1,728	0,00 ^{ns}
T3	49,46	49,18	48,70	45,48	48,21	1,843	0,00 ^{ns}
T4	50,87	48,18	47,69	47,22	48,49	1,634	0,00 ^{ns}
T5	49,95	48,72	46,84	45,60	47,78	1,934	0,00 ^{ns}
Média	50,08	48,62	47,43	45,89	48,00		
DP	0,531	0,425	0,903	0,877			
Fcal	4,00**	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}	0,00 ^{ns}			1,00 ^{ns}

significativo ao nível de 1% de probabilidade; ^{ns} não significativo. **DP= Desvio padrão. **Fcal**= F calculado.

T1: queijo sem revestimento; **T2**: queijo revestido com proteína isolada de soja + óleo essencial de manjeriço; **T3**: queijo revestido com fécula de mandioca + óleo essencial de manjeriço; **T4**: queijo revestido com proteína isolada de soja + quitosana; **T5**: queijo revestido com fécula mandioca + Quitosana.

No início do armazenamento, o teor de umidade dos tratamentos com e sem revestimento foi mais elevado, diminuindo ao longo do tempo de armazenamento, sendo menor a perda em queijos revestidos (47,78 a 48,21), o que pode indicar que o revestimento serviria como barreira à perda de umidade, atuando como agente sacrificante. Outra hipótese seria o fato de as películas poderem reter entre si parte da umidade existente no produto, pois são hidrofílicas.

Saurel et al. (2004) relatam que o fator que mais afeta a estabilidade do queijo é a atividade de água (*aw*), principalmente sobre teor de umidade e sal. Durante a maturação do queijo, a umidade tende a diminuir até que a superfície entre em equilíbrio com a atmosfera circundante. Cerqueira et al. (2010) observaram que o teor de umidade diminuiu em todas as amostras de queijo analisadas, sendo maior para as amostras sem revestimento, armazenadas por 20 dias. Gadêlha et al. (2010), em seus resultados, verificaram redução da perda de umidade nos queijos revestidos, quando comparadas com as amostras não revestidas. Observou-se diferença significativa ($p < 0,01$) somente para o tratamento-controle durante o armazenamento.

3.2 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

Na **Tabela 3** são apresentados os resultados da contagem de coliformes termotolerantes (45 °C) dos queijos de coalho revestidos durante o armazenamento.

TABELA 3 – RESULTADO DA CONTAGEM DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES (45 °C) EM (NMP/G) DOS QUEIJOS DE COALHO REVESTIDOS DURANTE O ARMAZENAMENTO REFRIGERADO

Tratamentos	Período de Armazenamento (dias)				Legislação
	1	7	14	21	
T1 (Controle)	>1,1 x10 ⁴	6,8x10 ³	5,0x10 ¹	<3	5x10 ²
T2	2,7x10 ²	5,8x10 ¹	3,5x10	<3	-
T3	3,7x10 ²	1,6x10 ²	<3	<3	-
T4	2,1x10	<3	<3	<3	-
T5	6,3x10	<3	<3	<3	-

NMP= Número Mais Provável. **Legislação: RDC nº 12, de 21 de fevereiro de 2001.**

T1: queijo sem revestimento; **T2:** queijo revestido com proteína isolada de soja + óleo essencial de manjeriço; **T3:** queijo revestido com fécula de mandioca + óleo essencial de manjeriço; **T4:** queijo revestido com proteína isolada de soja + quitosana; **T5:** queijo revestido com fécula mandioca + quitosana.

Os resultados dessa pesquisa foram comparados com as recomendações da RDC nº 12 (BRASIL, 2001), que aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos e estabelece o limite de Coliformes a 45 °C/g, *Estafilococos* coagulase positiva/g e *Salmonella* spp./25 g em queijos de muito alta umidade: umidade de 55%, incluindo os queijos de coalho com umidade correspondente, minas frescal, muçarela e outros.

Dentre os principais micro-organismos contaminantes em queijos, destacam-se: coliformes termotolerantes *Staphylococcus* spp., fungos filamentosos e leveduras, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* (PINTO et al., 2011).

O número mais provável (NMP) de coliformes termotolerantes foi reduzindo durante o período de armazenamento, sendo verificada uma maior redução nos queijos que receberam revestimentos, mantendo-se a qualidade microbiológica do produto. A redução dos coliformes a 45 °C pode ter ocorrido devido à presença do óleo essencial, da quitosana ou pode ter ocorrido pelo abaixamento do pH (Tabela 1) e, conseqüentemente, o aumento da acidez durante o armazenamento, pois se observou a redução do pH no tratamento-controle.

Observa-se que no início do armazenamento o queijo do tratamento-controle apresentou coliformes a 45 °C (>1,1 x10⁴ NMP/g), cujo valor está acima do padrão da legislação, porém nos últimos dias de armazenamento esse valor tornou-se menor (<3 NMP/g). A partir do sétimo dia houve uma redução dos coliformes nos tratamentos que foram adicionados do óleo essencial de manjeriço. As propriedades antimicrobianas do óleo essencial de diferentes espécies de manjeriço têm sido associadas com os constituintes majoritários como o linalol e metil chavicol (BONZIN et al., 2016).

Nos tratamentos que continham quitosana, a partir do primeiro dia de armazenamento a contagem de coliformes a 45 °C já apresentava valores abaixo de 10² NMP/g. Em queijo muçarela, Altieri et al. (2005) constataram inibição do crescimento de coliformes, inferiram que a presença de quitosana não afetou a viabilidade e o crescimento das bactérias ácido-lácticas, utilizadas como culturas iniciadoras no processamento desse queijo, e sugeriram que o uso de quitosana pode ser uma opção vantajosa para a extensão da vida de prateleira desse produto.

Para Damaceno et al. (2014), realizando aplicação de nisina como revestimento comestível em queijo coalho, o número de coliformes totais e termotolerantes foi reduzido durante o período de armazenamento, sendo verificada a quantidade menor no queijo-controle e nos queijos revestidos, no final do período de armazenamento de 20 dias. Resultado semelhante foi encontrado nessa pesquisa.

Segundo Moreira et al. (2012), o uso de agentes antimicrobianos em filmes e revestimentos para controlar o crescimento de micro-organismos nos alimentos pode ter um impacto significativo na extensão da vida útil e segurança alimentar. Portanto, o uso de revestimentos não garante a qualidade do queijo, fazendo-se necessário manter as condições de higiene e boas práticas de fabricação.

A pesquisa de coliformes a 35 °C não é determinada pela legislação sanitária vigente. No entanto, como esses micro-organismos geralmente são contaminantes ambientais, a contagem elevada indica falha na qualidade higiênico-sanitária do produto. Esses resultados mostraram que as amostras analisadas estão em conformidade com os padrões estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2001).

Na **Tabela 4** estão presentes os valores da contagem de Estafilococos coagulase positiva nos queijos de coalho com e sem revestimentos, analisados durante o armazenamento em refrigeração.

TABELA 4 – RESULTADO DA PESQUISA DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE POSITIVA (UFC/G) DOS QUEIJOS DE COALHO REVESTIDOS DURANTE O ARMAZENAMENTO REFRIGERADO

Tratamentos	Tempo de armazenamento (dias)				Legislação
	1	7	14	21	
T1 (Controle)	1,8x10 ³	2,5x10 ³	2,4x10 ³	6,2x10 ³	5x10 ²
T2	5,8x10 ²	1,7x10 ³	7,0x10 ³	4,6x10 ³	-
T3	2,4x10 ²	2,9x10 ²	7,0x10 ³	2,4x10 ³	-
T4	2,1x10 ²	1,8x10 ³	2,6x10 ²	3,2x10 ³	-
T5	3,7x10 ²	1,8x10 ³	4,9x10 ²	2,1x10 ³	-

UFC = Unidade Formadora de Colônias. RDC= Resolução de Diretoria Colegiada.

T1: queijo sem revestimento; **T2:** queijo revestido com proteína isolada de soja + óleo essencial de manjeriçã; **T3:** queijo revestido com fécula de mandioca + óleo essencial de manjeriçã; **T4:** queijo revestido com proteína isolada de soja + quitosana; **T5:** queijo revestido com fécula mandioca + Quitosana

Pode ser observado que em todos os tratamentos houve aumento na contagem de Estafilococos coagulase positiva durante o armazenamento, não se enquadrando nos padrões da ANVISA (Brasil, 2001), que determina a tolerância de contagem de Estafilococos coagulase positiva até 5x10² UFC/ g. O uso dos revestimentos com quitosana gerou uma pequena redução de Estafilococos coagulase positiva no tempo de 14 dias, quando comparado ao queijo do tratamento-controle, os tratamentos T2 e T3.

Provavelmente, os queijos adquiridos já estavam contaminados por Estafilococos coagulase positiva, advindos da matéria-prima, manipuladores ou ar ambiental, já que não foi realizado o acompanhamento das Boas Práticas de Fabricação do queijo. A aplicação de revestimentos com óleo essencial de manjeriçã e de quitosana não foram eficientes para o controle desse micro-organismo.

Segundo Cunha Neto et al. (2002), a contaminação por *Staphylococcus* spp. pode ocorrer durante a manipulação ou estocagem do alimento, por cepas de origem ambiental ou humana. Pozzo et al. (2011), avaliando a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de gengibre, manjeriçã, alecrim e sálvia em *Staphylococcus* spp., não evidenciaram atividade antibacteriana.

Pinto et al. (2011), pesquisando a qualidade microbiológica de queijo minas frescal em relação à contagem de *Staphylococcus* spp., verificaram que 100% das amostras artesanais de queijo apresentaram valores acima do permitido pela legislação, que é de no máximo 5 x 10² UFC/g.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp., houve ausência em 25 gramas da amostra em todos os tratamentos, durante a vida de prateleira, encontrando-se dentro dos padrões estabelecidos pela RDC n° 12/2001. De acordo com Melo et al. (2009), a ausência de *Salmonella* spp. pode estar relacionada à presença de bactérias lácticas, que tornam o queijo um meio adverso à sobrevivência de micro-organismos patogênicos ou em decorrência da condição estressante, oriunda do processamento e estocagem aos quais o alimento foi submetido.

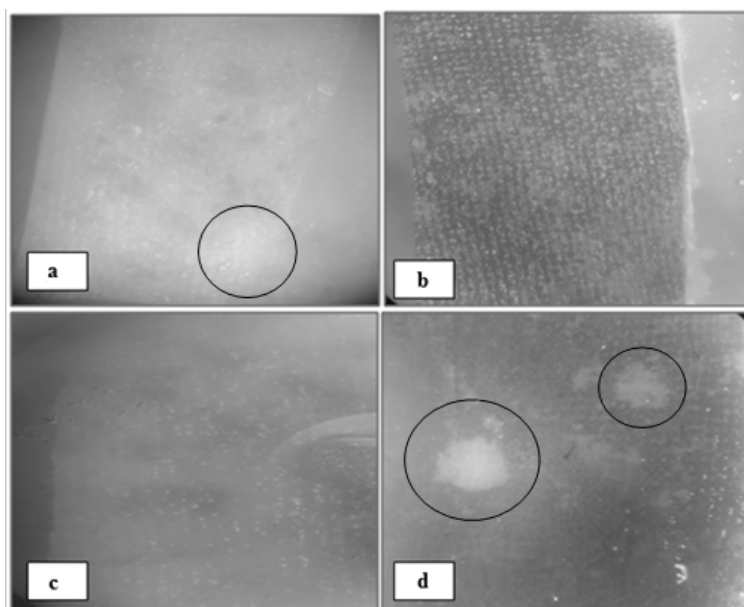
A ausência de *Salmonella* spp. nos produtos lácticos pode estar associada a menor capacidade de concorrência dessas espécies em relação aos coliformes e *Staphylococcus* spp., e a ocorrência desses micro-organismos no alimento está na maioria das vezes agregada à diminuição das contagens dos outros contaminantes (BRANT et al., 2007). Por ser potencialmente capaz de provocar infecção e toxinfecção veiculadas por alimentos, a presença de *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. no queijo classifica-o como produto impróprio para o consumo (SANTANA et al., 2009).

3.3 ANÁLISE MICROSCÓPICA DA SUPERFÍCIE DOS QUEIJOS

As microfotografias das superfícies e perfil dos queijos revestidos analisados por microscópica com aumento de 50x são apresentadas nas **Figuras 1 e 2**.

O queijo revestido com proteína isolada de soja com quitosana apresentou boa aderência ao produto (Figura 1c), o que não foi observado no revestimento com óleo essencial, apresentando pequenas falhas que podem ser observadas nas partes mais esbranquiçadas, onde o iodo não foi fixado (Figura 1a). Segundo Banker (1966), as condições ambientais durante a formação dos filmes podem influenciar na coesão deles. Tal fato pode acarretar a formação de filme defeituoso, com cavidades ou espessuras não uniformes, aumentando a permeabilidade do filme.

FIGURA 1 – MICROGRAFIAS DAS SUPERFÍCIES DOS QUEIJOS REVESTIDOS SOB AUMENTO DE 50X.



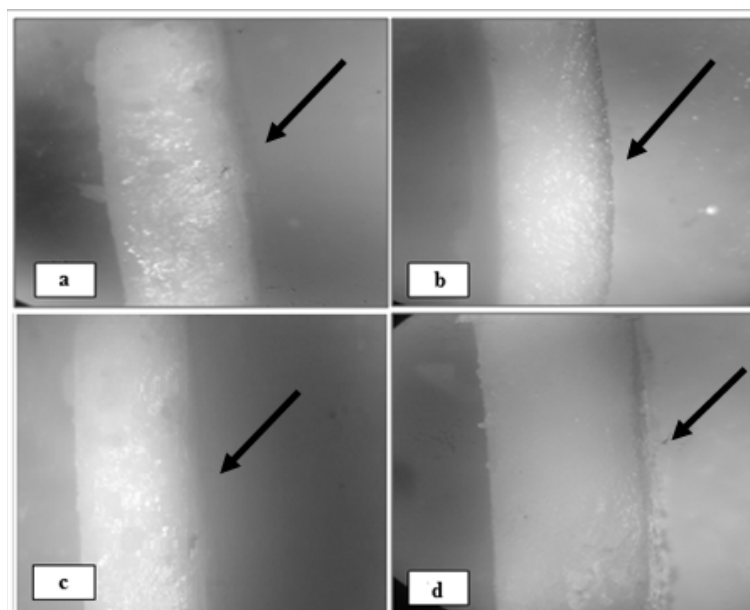
Fonte: O autor (2015).

(a) queijo revestido com proteína isolada de soja + óleo essencial de manjeriço; (b) queijo revestido com fécula de mandioca + óleo essencial de manjeriço (c) queijo revestido com proteína isolada de soja + quitosana; (d) queijo revestido com fécula de mandioca + Quitosana.

Nas amostras dos queijos revestidos com fécula de mandioca + quitosana (**Figura 1d**), na microfotografia apresentou cavidades, que possivelmente foram decorrentes da formação de bolhas de ar. As propriedades intrínsecas (biodegradabilidade, biocompatibilidade, capacidade de formação de filmes, bioadesividade, hidrofiliçidade) da quitosana fazem desta uma eficiente matriz filmogênica (DENG et al., 2007).

Na análise de perfil por micrografia (**Figura 2**), foi possível verificar que os revestimentos foram fixados nos queijos, nos quais se pode observar uma fina camada destacada por coloração mais intensa. Isso indica que os revestimentos aplicados nos queijos foram eficientes em relação à formação de película de proteção.

FIGURA 2 – MICROGRAFIAS DO PERFIL DOS QUEIJOS REVESTIDOS SOB AUMENTO DE 50X.



Fonte: O autor (2015).

(a) queijo revestido com proteína isolada de soja + óleo essencial de manjeriçã; (b) queijo revestido com fécula de mandioca + óleo essencial de manjeriçã (c) queijo revestido com proteína isolada de soja + quitosana; (d) queijo revestido com fécula de mandioca + quitosana.

4 CONCLUSÕES

Os valores de pH e umidade dos queijos não foram afetados significativamente ($p \leq 0,05$) pelo uso do revestimento, todavia o tratamento à base de proteína isolada de soja e quitosana (T4) foi o que apresentou melhor característica de proteção à perda de umidade.

A aplicação dos revestimentos nos queijos de coalho foi eficiente no controle dos coliformes termotolerantes e *Salmonella* spp., mantendo-os ausentes até os 21 dias de armazenamento, prologando o tempo de prateleira, porém não foi eficaz no controle de Estafilococos coagulase positiva. Apenas a utilização de 1% de óleo essencial ou de quitosana em solução de revestimento não garante que o queijo se torne seguro.

Os revestimentos se fixaram nos queijos e influenciaram nos aspectos visuais, conferindo aparência brilhosa e cor amarelada, com melhor fixação nos tratamentos à base de proteína + quitosana e fécula de mandioca + óleo essencial, sendo o mais indicado para revestir queijos.

A aplicação de revestimentos associados aos óleos essenciais e quitosana usados como agentes antimicrobianos estão sendo promissores na conservação de alimentos. Entretanto o queijo de coalho ainda necessita de alternativas que possam ser praticadas para prolongar a vida de prateleira e tornar o produto mais atrativo.

ABSTRACT

APPLICATION OF EDIBLE COATINGS IN THE QUALITY AND CONSERVATION OF “COALHO” CHEESE

The present work aimed to develop and apply edible coatings in “coalho” cheese and evaluate the physical-chemical, microbiological, and microscopic quality. The statistical design was completely randomized in a 5x4 factorial with 4 replicates and 5 treatments: (control-cheese without coating, cheese coated with protein isolated from soybean + essential oil of basil, cassava starch + basil essential oil; isolated soy protein + chitosan and cassava starch + chitosan). The film-forming solutions were prepared, and the cheeses were immersed for 30 seconds in the solutions. The storage period of the cheeses was 21 days under refrigeration conditions ($5 \pm 1^\circ\text{C}$, % 50 ± 2 RH). The physicochemical and microbiological analyzes were performed at times 1, 7, 14, and 21 days. The results for pH and humidity did not present a significant effect ($p \leq 0.05$) by Tukey's test. The outcome for thermotolerant coliforms complied with the standards established by Brazilian legislation. In all treatments, there was the presence of coagulase-positive *Staphylococcus* during storage. For *Salmonella sp.* research, there was an absence of 25 grams in all treatments. Edible films and coatings can improve shelf life and food quality, serving as a barrier to moisture transfer, better visual appearance, and reduced microbiological contamination

KEYWORDS: ACTIVE PACKAGING; ESSENTIAL OIL; CHITOSAN; STORAGE; SHELF LIFE.

REFERÊNCIAS

- 1 ALTIERI, C.; SCROCCO C.; SINIGAGLIA, M.; NOBILE, D. Use of chitosan to prolong mozzarella cheese shelf life. **Journal Dairy Science**, v.88, p.2683-2688, 2005.
- 2 ANTONIOU, J. et al. Characterization of tara gum edible films incorporated with bulk chitosan and chitosan nanoparticles: a comparative study. **Food Hydrocolloids**, v.44, p.309- 319, 2015.
- 3 AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Association of Analytical Chemists International, 18th ed. Gathersburg, Maryland, USA, 2005.
- 4 APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**, 4. ed. p.676. **Washington**, 2001.
- 5 BANKER, G. S. Film coating theory and practice. **Journal Pharmacology Science**, v.55, p. 81, 1966.
- 6 BOTREL, D.A.; SOARES, N.F.F.; GERALDINE, R.M.; PEREIRA, R.M.; FONTES, E.A.F. Revestimento ativo de amido na conservação pós-colheita de pera Williams minimamente processada. **Ciência Rural**, v.40, n.8, 2010.
- 7 BOZIN, B.; MIMICA-DUKIC, N.; SIMIN, N.; ANACKOV, G. Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p. 1822-1828, 2006.

- 8 BRANT, L.M.F.; FONSECA, L.M.; SILVA, M.C.C. Microbiological quality of artisanal minas cheese, manufactured in the region of Serro - MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59, p.1570-1574, 2007.
- 9 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Inst. **Normativa N° 30, de 26 de junho de 2001**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Coalho. Anexo II. jul. 2001, Brasília.
- 10 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília. http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b. Acesso em: 21/10/2015.
- 11 CERQUEIRA, M.A.; SOUSA-GALLAGHER, M.J. et al. Use of galactomannan edible coating application and storage temperature for prolonging shelf-life of "Regional" cheese. **Journal of Food Engineering**, v.97, p. 87–94, 2010.
- 12 CUNHA-NETO, A.; SILVA, C.G.M.; STAMFORD, T.L.M. Staphylococcus enterotoxigênicos em alimentos in natura e processados no Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.22, n.3, p. 263-271, 2002.
- 13 DAMACENO, M.N.; BANDEIRA, M.G.L.; et al. Aplicação de nisina como revestimento comestível em queijo coalho. **Revista Saúde e Ciência On line**, v. 3, n.3, p.297-304, 2014. Disponível em: <http://www.ufcg.edu.br/revistasauedeenciencia/index.php/RSCUFCG/article/view/194>. Acesso em: 30/08/2015.
- 14 DENG, C.M.; HE, L.Z.; ZHAO, M.; YANG, D.; LIU, Y. Biological properties of the chitosan-gelatin sponge wound dressing. **Carbohydrate Polymers**, v.69, p. 583-589, 2007.
- 15 DI-PIERRO, P. D.; SORRENTINO, A.; MARINIELLO, L.; GIOSAFATTO, C.V.L.; PORTA, R. Chitosan/whey protein film as active coating to extend Ricotta cheese shelf-life. **LWT-Food Science Technology**, v.44, n.10, p.2324–2327, 2011.
- 16 DUTTA, P. K., TRIPATHI, S., MEHROTRA, G. K., & DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food chemistry**, v.114, n.4, p.1173-1182, 2009.
- 17 ESPINA, L.; SOMOLINOS, M.; LORÁN, S.; CONCHELLO, P.; GARCÍA, D.; ANDPAGÁN, R. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. **Food Control**. v.22, p.896–902, 2011.
- 18 GADÉLHA, P. C.; ALVES, R.C. et al. Análise físico-química de queijo coalho revestido com solução de xiloglucana de *hymenaea courbaril*. In: 62° Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. 2010, Natal. **Anais...** Natal/RN, 2010. Disponível em: <http://www.sbpnet.org.br/livro/62ra/resumos/resumos/2900.htm>. Acesso em: 08/11/2015.
- 19 GALLO NETTO, C. **Inulin**: Biofilmes antimicrobiano protegem alimentos. 2009. *Jornal da Unicamp*. Disponível em http://www.unicamp.br/unicamp/unicamp_hoje/ju/setembro2009/ju440pdf/Pag11.pdf. > Acesso em: 20/06/2015.
- 20 GOMES, R.A et al. Caracterização físico-química dos Queijos de coalho artesanal e industrial comercializados na cidade de Currais Novos/RN. In: CONGRESSO NORTE NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 26., 2013, Palmas. **Anais...** Palmas/TO, 2013. Disponível em: <http://propi.ifto.edu.br/ocs/index.php/connepi/vii/paper/viewFile/3305/3022>>. Acesso em: 09/02/2020.
- 21 GONZALES-AGUILAR, G. A. et al. Food Engineering: Integrated Approaches. In: GONZALES-AGUILAR, G. A. et al. *New technologies to preserve quality of freshcut produce*. New York: Springer, 2008, cap.6, p.105-115. Disponível em: http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-0-387-75430-7_6#page-1.> Acesso em: 29/08/ 2015.
- 22 HANSMANN, P. E. **Propriedades mecânicas e permeabilidade ao vapor de água de filmes de quitosana secos em condições de ar controladas utilizando bomba de calor**. 2017. 90 f. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2017.
- 23 IAL - INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos Físico-químicos Para Análise de Alimentos. 4. ed. v. 1, p. 825 e 859. São Paulo, 2008.
- 24 INCORONOTE, A.C.; CONTE, A.; BUONOCORE G.G.; DEL NOBLE, M.A. Agar hydrogel with silver nanoparticles to prolong the shelf life of Fior di Latte cheese. **Journal of Dairy Science**, v.94, N. 4, p.1697-1704, 2011.
- 25 KANG, H. J.; SEA, C. M. Potato peel-based biopolymer film development using high-pressure homogenization, irradiation, and ultrasound. **Food Science and Technologies**, v.43. n. 6, p.903-909, 2010.
- 26 KOKOSZKA, S.; DEBEAUFORT, F.; HAMBLETON, A.; LENART, A.; VOILLEY, A. "Protein and glycerol contents affect physico-chemical properties of soy protein isolate-based edible films," *Innov. Food Science and Emerging Technologies*. v.11, n.3, p. 503-510, 2010.
- 27 LIMPAN, N., PRODPRAN, T., BENJAKUL, S., & PRASARPRAN, S. Properties of biodegradable blend films based on fish myofibrillar protein and polyvinyl alcohol as influenced by blend composition and pH level. **Journal of Food Engineering**, v.100, n.1, p.85–92, 2010.
- 28 LÚCIO, L.M.F.; SILVEIRA, M.F.A.; GERALDINE, R.M.; TAKEUCHI, K.P.; TORRES, M.C.L.; MOURA, C.J. Uso de filmes ativos antimicrobianos incorporados com óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) na conservação de massa fresca. 2011. Iniciação Científica.11p. Disponível em: <http://www.sbpnet.org.br/livro/63ra/conpeex/pibic/trabalhos/>

- 29 MARTINS, André Gustavo Lima de Almeida. **Atividade antibacteriana dos óleos do manjeriço (*Ocimum basilicum* Linnaeus) e do gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) frente a linhagens de *Escherichia coli* enteropatogênicas isoladas de hortaliças**. 2010. 179 f. Tese (doutorado) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, 2010.
- 30 MARTINS, J.T.; CERQUEIRA, M.A.; SOUZA, W.S.; AVIDES, M.; VICENTE, A.A. Shelf life extension of ricotta cheese using coating of galactomannans from nonconventional sources incorporating nisin against *Listeria monocytogenes*. **Journal and Agricultural Food Chemistry**, v.58, p.1884–1891, 2010.
- 31 MELO, A.C.M.; ALVES, L.M.C.; COSTA, F.N. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo tipo Minas Padrão comercializado na cidade de São Luís, Maranhão. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n.4, p.547-555, 2009.
- 32 MENEZES, S. S. M. Queijo de coalho: tradição cultural e estratégia de reprodução social na região Nordeste. **Revista de Geografia**, v.28, n.1, p. 40-56, 2011.
- 33 MONTES, S.S.; SANTANA NETA, L.G.; CRUZ, R.S. Óleos essenciais em embalagens para alimentos – revisão de literatura de 2000 a 2012. **Revista Eletrônica Perspectivas da Ciência e Tecnologia**, v.5, n.1/2, p.1-8, 2013. Disponível em: <<http://revistascientificas.ifrj.edu.br:8080/revista/index.php/revistapct>>. Acesso em: 23/08/2015.
- 34 MOREIRA, M.R.; PEREDA, M.; MARCOVICH, N.E.; ROURA, S.I. Antimicrobial Effectiveness of Bioactive Packaging Materials from Edible Chitosan and Casein Polymers: Assessment on Carrot, Cheese, and Salami. **Journal food Science**, v.79, p. 54-63, 2012.
- 35 PAGANI, A. A. C.; SANTANA, M. M.de.; ALEXANDRE, A. P. S.; SILVA, E. A. da; Silva, G. F. da. Aplicação de biopelículas pigmentadas em queijo de coalho. **Revista GEINTEC – São Cristóvão/SE**, V.3, n. 1, p.41-47, 2012.
- 36 PINTO, F.G.S.; SOUZA, M.; SALING, S.; MOURA, A.C. Qualidade microbiológica de queijo minas frescal comercializado no município de santa helena, PR, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.2, p. 191-198, 2011.
- 37 POZZO, M.D.; SANTURIO, J.V.D.F. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus* spp. Isolados de mastite caprina. **Ciência Rural**, v.41, n.4, p. 667-672, 2011.
- 38 SANTACRUZ, S; RIVANDANEIRA, C; CASTRO, M. Edible films based on starch and chitosan, Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical tratment. **National Agricultural Library. Food hydrocolloids**, v. 49 p. 89-90, 2015.
- 39 SANTANA, R.F.; SANTOS, D.M.; MARTINEZ, A.C.C.; LIMA, Á.S. Microbial quality of "coalho" cheese commercialized in Aracaju, SE. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.60, p.1517-1522, 2009.
- 40 SAUREL, R.; PAJONK, A.; ANDRIEU, J. Modelling of French Emmental cheese water activity during salting and ripening periods. **Journal of Food Engineering**, v.63, p.163–170, 2004.
- 41 SKURTYS, O.; ACEVEDO, C.; PEDRESCHI, F.; ENRIONE, J.; OSORIO, F.; AGUILERA, J. Food hydrocolloid edible films and coatings. **Nova Science Publishers**. Universidad de Santiago de Chile, 2010. Disponível em: <http://intrawww.ing.puc.cl/siding/datos/public_files/profes/fpedreschi_GTSNWOEDCWJOGDA/Food%20Hydrocolloid%20Edible%20Films%20and%20Coatings.pdf>. Acesso em: 20/10/2015.
- 42 SOARES, N.M; MENDES, T.S.; VICENTE, A.A. Effect of chitosan-based solutions applied as edible coatings and water glazing on frozen salmon preservation – A pilot-scale study. **Journal of Food Engineering**, v.119, p. 316–323, 2013.
- 43 SOUSA, A.Z.B.de. et al. Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em estados do nordeste do Brasil. **Revista Arquivos do Instituto Biológico**, v.81, n.1, p.30-35, 2014.