



Efeito de coberturas comestíveis a base de quitosana e extrato de romã em parâmetros de qualidade de queijo coalho

Effect of edible coating of chitosan and pomegranate extract on quality parameters of rennet cheese

E. C. C. Melo^{1*}; B. C. F. Freire¹; N. O. Araújo²; T. N. Barbosa³; R. H. L. Leite⁴;
K. M. P. Soares¹

¹Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 59625-900, Mossoró-RN, Brasil

²Laboratório de Fisiologia Pós-Colheita de Hortaliças, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900, Viçosa-MG, Brasil

³Laboratório de Imunologia e Parasitologia Molecular, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 59625-900, Mossoró-RN, Brasil

⁴Laboratório de Processos Químicos, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 59625-900, Mossoró-RN, Brasil

*email: elisandra.cabral@ufpe.br

(Recebido em 21 de setembro de 2022; aceito em 15 de janeiro de 2023)

O queijo coalho apresenta uma alta perecibilidade, tornando essencial a exploração de métodos capazes de atuar na sua conservação. Neste escopo, os produtos naturais empregados na produção de coberturas biopoliméricas têm merecido destaque. Dessa forma, o seguinte estudo teve por objetivo avaliar o efeito de coberturas comestíveis a base de quitosana e extrato de romã na qualidade de queijo coalho. Os grupos estudados foram: controle, solução de quitosana 2%, extrato hidroalcoólico de romã 5% e solução de quitosana 2% e extrato hidroalcoólico de romã 5%. Os dados das avaliações microbiológicas foram comparados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, enquanto os valores obtidos na análise sensorial foram submetidos ao teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. Como resultado, as coberturas biopoliméricas a base de quitosana e extrato de romã foram responsáveis pela diminuição do crescimento fúngico e manutenção dos parâmetros sensoriais do queijo coalho armazenado nas condições estudadas.

Palavras-chave: bioconservação, *Punica granatum* L., tecnologia de alimentos.

The rennet cheese presents high perishability, being essential the exploration of methods capable of acting in your conservation. In this scope, natural products used in biopolymeric coating production have deserved emphasis. Thus, the present study aimed to evaluate the effect of edible coatings based on chitosan and pomegranate extract on the quality of curd cheese. The groups evaluated were: control, chitosan solution 2%, hydroalcoholic extract of pomegranate 5% and chitosan solution 2% and hydroalcoholic extract of pomegranate 5%. The data of the microbiological evaluations were compared by Tukey test at 5% probability, while the values obtained from sensory evaluation test were subjected to the nonparametric Kruskal-Wallis test at 5% significance level. As a result, biopolymeric coatings based on chitosan and pomegranate extract were responsible for the decrease in fungal growth and maintenance of the sensory parameters of the rennet cheese stored under the studied conditions.

Key words: bioconservation, *Punica granatum* L., food technology.

1. INTRODUÇÃO

Os queijos são produtos derivados do leite, muito consumidos mundialmente, apresentando propriedades nutritivas inerentes à concentração de nutrientes derivados da matéria-prima, e de aspecto sensorial característico [1]. Um tipo de queijo cuja produção industrial é amplamente difundida no Nordeste brasileiro é o queijo tipo coalho [2], originário de pequenas produções artesanais no Nordeste do Brasil e que tem grande apelo comercial entre consumidores locais, representando parte significativa da renda de produtores de leite [3, 4]. O queijo coalho pode ser classificado como de média e alta umidade [5], o que favorece a proliferação de micro-organismos, comprometendo sua qualidade e diminuindo a vida de prateleira [6].

Na busca pela obtenção de alimentos com alta estabilidade, maior vida útil e produzidos com quantidade mínima de substâncias químicas [7], o uso de novas tecnologias de embalagens, capazes de desempenhar esse papel, aparece como uma alternativa interessante [8]. As chamadas coberturas comestíveis, são embalagens que apresentam compostos biodegradáveis, podendo ser consumidos juntamente com o alimento, ajudando a manter os seus parâmetros de qualidade e permitindo ainda o uso como veículo transportador de elementos bioativos, que promovem uma interação com o produto, atuando na melhoria das suas características [9].

A exemplo, tem-se então a quitosana, que consiste em um produto natural derivado da quitina e produzido a partir de resíduos de crustáceos marinhos ou por algumas espécies fúngicas, possuindo caráter não tóxico, biodegradável e biocompatível com sistemas biológicos [10], alta disponibilidade, com propriedades distintas, inclusive antimicrobianas, e excelente capacidade de formação de filme, apresentando-se como um dos polissacarídeos mais estudados na aplicação de embalagens de alimentos [11]. Pesquisas vêm sendo desenvolvidas na produção de coberturas à base de quitosana para alimentos diversos, como morango [12, 13], café [14], couve folhas [15], manga [16], e também em produtos de origem animal, como carne [17] e queijo [18]. Sobre este último, diferentes tipos têm sido estudados, sendo observada a eficiência na aplicação de tal cobertura com a finalidade de prolongar a vida útil dos produtos [19].

Além das vantagens já citadas no uso da quitosana, inúmeros trabalhos relatam a sua utilização em combinação com compostos ativos, como extratos vegetais e óleos essenciais [11]. Neste sentido, a romã (*Punica granatum* L.) é uma fruta com numerosos bioativos fitoquímicos, como alcaloides e taninos, que vêm sendo relatados como eficientes atuantes antimicrobianos, entre outras propriedades farmacológicas [20]. O extrato da casca da romã, inserido em uma matriz comestível, assim como o filme de quitosana, pode melhorar propriedades mecânicas, estruturais e bioquímicas do filme, bem com retardar a oxidação lipídica e a contaminação microbiana [21]. A atividade desse extrato foi observada em fungos da espécie *Alternaria alternata*, e a aplicação do mesmo levou a malformação micelial, interferiu no crescimento fúngico e deformou a parede celular desse micro-organismo [22], revelando seu potencial uso no controle microbiano.

Considerando a importância do queijo coalho e a crescente demanda por métodos de preservação alternativos, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de cobertura biopolimérica a base de quitosana e extrato de romã em parâmetros de qualidade do queijo coalho.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Produção do extrato e da solução filmogênica

A produção do extrato de romã e da solução filmogênica de quitosana foi realizada com base na metodologia descrita por Alsagaf et al. (2017) [20], com adaptações. Frutos da romã foram lavados com água estéril e sanitizados com solução de hipoclorito de sódio a 100 ppm. Logo após, procedeu-se a secagem em temperatura ambiente e corte dos frutos para separação da polpa e remoção da casca. As cascas foram então colocadas em estufa de circulação de ar (40 °C/48h) para secagem, seguida da maceração, com almofariz e pistilo, para produção do pó. Na extração dos componentes químicos da romã, o pó da romã foi solubilizado em etanol 70%(v/v), em proporção de 1:10, o material foi mantido em agitação constante durante 24 h e em seguida, passou por filtração em filtros de papel. O produto da extração foi armazenado protegido da luz à temperatura de 5 °C.

Para as coberturas, a quitosana comercial foi dissolvida em solução de ácido acético a 1% e acrescida de glicerina a 1% (v/v) como agente plastificante. Por fim, obteve-se uma solução filmogênica de quitosana a 2% (m/v) que permaneceu em condições de agitação por 24 h para completa homogeneização a temperatura de 26 ± 1 °C. Com a obtenção do extrato de romã e da solução filmogênica foram produzidos diferentes tratamentos para posterior aplicação ao queijo coalho (Tabela 1). No tratamento de solução de quitosana 2% (m/v) e Extrato hidroalcoólico de romã 5% (v/v) (SQEH) utilizou-se o extrato de romã na proporção de 5% (v/v) em relação à solução filmogênica.

Tabela 1. Diferentes tratamentos aplicados ao queijo coalho.

Tratamento	Detalhamento
CO	Controle negativo (ausência de tratamento)
SQ	Solução de quitosana 2%
EH	Extrato hidroalcoólico de romã 5%
SQEH	Solução de quitosana 2% e Extrato hidroalcoólico de romã 5%

2.2 Processamento do queijo tipo coalho e aplicação da cobertura

A matéria-prima foi obtida de comércio varejista local, na forma de leite industrializado, do tipo pasteurizado, sob refrigeração adequada. O queijo coalho foi produzido, em laboratório, logo após a aquisição do leite, de acordo com a metodologia proposta por Nassu et al. (2006) [23] e Araujo et al. (2012) [24], com adaptações.

Na preparação do queijo, o leite foi pré-aquecido a 35 °C para adição do coalho comercial (4 g/10 L) e o cloreto de cálcio 50% (5 mL/10 L), permanecendo em repouso por 50 minutos, em seguida procedeu-se o corte da massa com liras verticais e horizontais. Após o corte, a massa foi misturada para separação do soro. Para o cozimento da massa obtida, parte do soro foi separada e fervida (75 °C). Na etapa de salga, 1,0 L de soro foi separado e adicionado de 100 g de cloreto de sódio iodado e aquecido até fervura, permanecendo em contato com o queijo por 5 minutos até sua retirada. A massa remanescente foi disposta em formas vazadas e prensada.

As peças de queijo produzidas e destinadas às avaliações físico-químicas e microbiológicas foram mantidas a 18 ± 2 °C por 24 horas, visando criar condições de abuso térmico para o desenvolvimento de micro-organismos e estimar o efeito dos tratamentos sobre estes [25].

Logo após, as peças foram cortadas em cubos de aproximadamente 27 cm³, homogeneizadas em bandejas plásticas estéreis, e separadas em quatro lotes para aplicação dos tratamentos descritos na Tabela 1. A aplicação de coberturas SQ, EH e SQEH se deu por “*dipping*”, método pelo qual as porções de queijo foram mergulhadas três vezes consecutivas em cada cobertura com a ajuda de palitos de madeira estéreis [26], depois de secas, as porções foram depositadas em bandejas de poliestireno dispostas sobre a bancada, em sala climatizada, a 12 ± 2 °C por cinco horas ou até a completa secagem das peças [27, 28]. Na etapa seguinte, os queijos, submetidos aos diferentes tratamentos, foram embalados em grupos de cinco porções em sacos de nylon/polietileno, submetidos a seladora a vácuo e armazenados sob refrigeração (7 ± 1 °C) por sete dias.

2.3 Avaliação de parâmetros de qualidade do queijo coalho

Este trabalho é parte integrante do projeto de pesquisa aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos, conforme Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, através do parecer de número 2.444.611. Dessa forma, a análise sensorial foi realizada de acordo com os critérios contidos em Brasil (2013) [29].

A avaliação sensorial foi realizada pela utilização de escala hedônica de nove pontos [de “Desgostei muitíssimo” (1) a “Gostei muitíssimo” (9)] para os parâmetros de cor, textura, odor, sabor, aparência e aceitação global, enquanto a intenção de compra obedeceu escala de cinco pontos [de “Decididamente eu compraria” (1) a “Decididamente eu não compraria” (5)] [30]. A análise foi realizada com a participação de 40 julgadores não treinados. As amostras de queijo coalho tratadas e controle foram produzidas 24 horas antes da avaliação sensorial.

Por tratamento, cada participante degustou, aproximadamente, 15 g de queijo, contidos em copos plásticos descartáveis e codificados com números aleatórios de três dígitos, acompanhados de um copo de água e biscoitos do tipo água e sal [31].

2.4 Análises microbiológicas

Decorridos os sete dias de armazenamento refrigerado, os queijos controle e tratados foram submetidos à análise de contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos, *Staphylococcus* coagulase positiva e bolores e leveduras, conforme metodologias descritas em Brasil (2003) [32] e American Public Health Association (2001) [33].

2.5 Análise estatística

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos e três repetições. Os dados microbiológicos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e as médias obtidas foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Na avaliação sensorial, os valores foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de significância. A matriz gráfica da correlação de Spearman dos atributos sensoriais foi obtida usando o pacote “corrplot” [34] no software estatístico R versão 3.5.026 [35].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da avaliação de parâmetros de qualidade dos queijos de coalho encontram-se distribuídos nas Tabelas 2 e 3 e na Figura 1.

Tabela 2. Resultados da análise sensorial de queijo coalho com diferentes coberturas comestíveis à base de quitosana e extrato hidroalcoólico de romã.

T	Aparência	Cor	Textura	Sabor	Odor	Aceitação global	Intenção de compra
CO	8,0 ^a (7,0-9,0)	8,0 ^a (7,0-9,0)	8,0 ^a (7,0-9,0)	7,0 ^a (6,0-8,0)	8,0 ^a (5,0-8,0)	8,0 ^a (6,5-8,0)	2,0 ^a (1,0-3,0)
SQ	7,5 ^a (6,8-9,0)	8,0 ^a (7,0-9,0)	7,5 ^a (6,0-9,0)	7,0 ^a (6,0-8,0)	8,0 ^a (5,0-8,0)	8,0 ^a (6,5-8)	2,0 ^a (1,0-3,0)
EH	8,0 ^a (6,0-8,0)	7,0 ^a (6,0-8,0)	8,0 ^a (7,0-9,0)	7,0 ^a (5,0-8,0)	7,0 ^a (5,0-8,0)	7,0 ^a (5,0-8,0)	2,0 ^a (1,0-3,0)
SQEH	7,0 ^a (6,0-8,0)	8,0 ^a (6,0-8,0)	8,0 ^a (7,0-8,0)	7,0 ^a (5,8-8,0)	7,0 ^a (5,0-8,0)	7,0 ^a (6,0-8,0)	2,0 ^a (1,0-3,0)

T: tratamento, CO: controle (queijo sem qualquer tipo de tratamento); SQ: quitosana a 2%; EH: extrato de romã a 5%; SQEH: quitosana 2% e extrato de romã a 5%. Valores expressos em mediana. Os números entre parênteses correspondem ao primeiro e terceiro quartil. Médianas seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de 5% de probabilidade.

A Tabela 2 mostra os valores médios obtidos na avaliação dos parâmetros sensoriais dos queijos CO e recobertos, todos próximos a 7, exceto na intenção de compra, que utilizou uma escala de pontuação diferente (1 a 5) e, cujos resultados, variaram de 2,18 a 2,33. Os grupos testados não apresentaram diferença estatística para o queijo CO, em nenhum dos atributos estudados, demonstrando que as peças recobertas ofereceram uma aceitação semelhante. Assim, a ausência de diferença revela que o tratamento empregado não foi suficiente para alterar a percepção sensorial dos provadores em comparação ao CO, uma vez que a intenção de compra em ambos os grupos se manteve constante (Tabela 2).

Resultados próximos aos deste estudo foram obtidos por Duran e Khave (2020) [17] ao avaliar a eficácia do revestimento comestível à base de quitosana e natamicina em atributos do queijo iraniano ultrafiltrado, não sendo observadas diferenças nas propriedades organolépticas do produto durante os dias três e seis de análise. Por outro lado, quando empregado um filme composto por quitosana, goma guar e óxido de zinco na cobertura de queijo Ras, foram obtidos

resultados mais satisfatórios de aparência, sabor e textura em relação ao queijo sem cobertura [36].

Para melhor explorar a relação existente entre os atributos sensoriais e a aceitação global, obteve-se uma matriz de correlação (Figura 1). A forte correlação positiva observada entre cor e aparência é um indicativo de que a satisfação ou não com a aparência do queijo é seguramente influenciada pela cor do produto. Os dados contidos na Tabela 2 e a forte correlação positiva entre aparência e sabor com a aceitação global (Figura 1), denota que as coberturas comestíveis utilizadas no presente trabalho não alteraram os aspectos característicos do queijo coalho, obtendo índices de aprovação semelhantes aos dos queijos não recobertos.

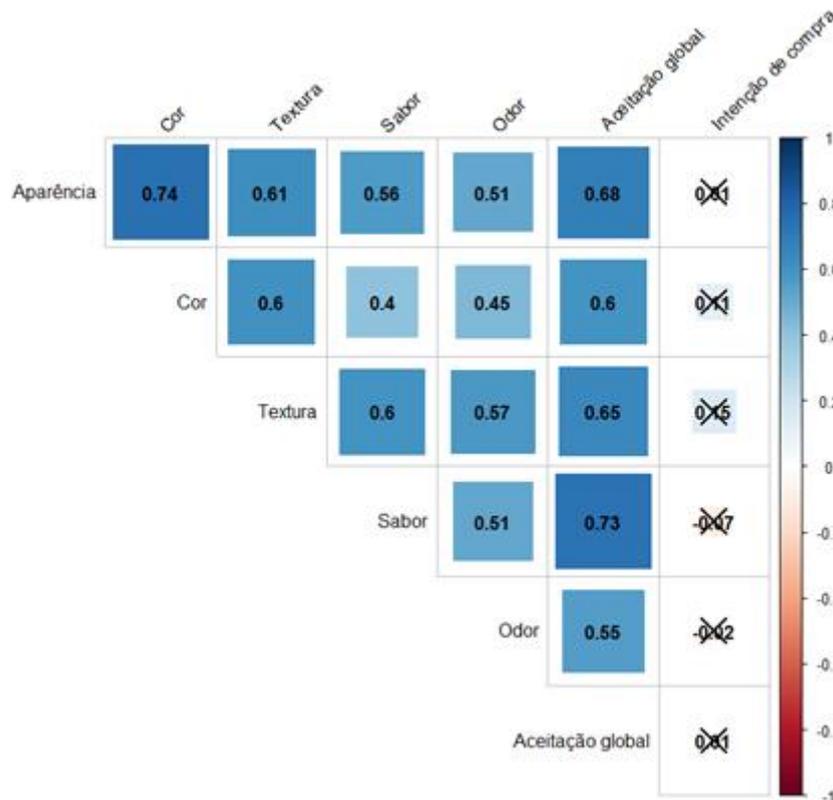


Figura 1. Heatmap da correlação de Spearman entre os atributos sensoriais do queijo coalho com diferentes coberturas a base de quitosana e extrato hidroalcoólico de romã, após sete dias sob refrigeração em embalagem a vácuo. Valores no centro do quadrado indicam os coeficientes de correlação. Coeficientes com X são não significativos ($p > 0,05$).

A avaliação sensorial é a ciência capaz de medir a resposta a determinados produtos por meio do uso dos sentidos, e cujos resultados são utilizados para se obter informações diversas. Um exemplo é o impacto que as propriedades físicas podem exercer sobre as características do alimento e, dessa forma, como interferem na preferência e na intenção de compra dos consumidores. A resposta às alterações de ingredientes consiste em uma das aplicações de tal avaliação [37] e, nessa linha, o uso de coberturas comestíveis na formulação de queijos têm levado à inúmeras pesquisas [5, 38-41]. Nesse sentido, a alta correlação entre a aparência e o sabor com a aceitação global sugere que a adição de novos componentes, a cobertura de quitosana e o extrato de romã, no queijo coalho, não impactou na aceitação do produto, viabilizando uma futura aplicação comercial.

É importante reforçar que a aprovação do público influencia diretamente na adoção de um processo produtivo ou do uso de certos ingredientes, independentemente de seu valor nutricional [42]. Logo, a falta de familiaridade com os componentes utilizados é um fator limitante na escolha dos consumidores, mas a preocupação com a saúde e o meio ambiente podem facilitar na adoção

de novas práticas de consumo [43], apesar de tais fatores não se mostrarem relevantes o suficiente para influenciar na intenção de compra neste estudo.

O sabor, a textura e a capacidade de identificação da identidade sensorial do queijo são critérios fundamentais de qualidade. A origem do leite, o tipo de queijo, o processamento empregado e a maturação influenciam nas suas características sensoriais, e tais parâmetros, juntamente com estudos de rendimento, uniformidade de características e vida de prateleira fazem da análise sensorial um elo entre o desenvolvimento de novos produtos e a investigação de novas percepções [44].

Outro critério de qualidade do queijo envolve a detecção de micro-organismos deteriorantes e patogênicos, que são, respectivamente, organismos com capacidade de alterar as características organolépticas do produto pela degradação de proteínas e carboidratos e provocar doenças, como as intoxicações [45]. Na Tabela 3 encontram-se distribuídos os resultados obtidos nas análises microbiológicas.

Tabela 3. Contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios, *Staphylococcus spp.* e bolores e leveduras em queijos coalho submetidos a abuso térmico (18°C) e a diferentes coberturas comestíveis à base de quitosana e extrato hidroalcoólico de romã, após sete dias sob refrigeração (7°C) em embalagem a vácuo. CO: controle negativo; SQ: quitosana a 2%; EH: extrato de romã a 5%; SQEH: quitosana 2% e extrato de romã a 5%. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tratamento	Mesófilos	<i>Staphylococcus spp.</i>	Bolores e leveduras
	Log ₁₀ UFC/g		
CO	8,05 ^a ± 0,13	8,00 ^a ± 0,15	7,99 ^a ± 0,01
SQ	8,06 ^a ± 0,13	7,70 ^a ± 0,36	7,84 ^b ± 0,05
EH	7,98 ^a ± 0,12	7,85 ^a ± 0,32	7,77 ^b ± 0,08
SQEH	7,97 ^a ± 0,06	7,95 ^a ± 0,18	7,80 ^b ± 0,03

Na contagem de mesófilos aeróbios totais não ocorreram diferenças estatísticas entre os grupos (Tabela 3).

A contagem de mesófilos totais é relevante na obtenção de dados consistentes sobre a qualidade empregada na produção do alimento, sendo sua alta contagem um indicativo de inadequação, seja pela utilização de matéria-prima contaminada ou processamento insatisfatório. É importante salientar que a maioria das bactérias patogênicas de interesse em alimentos está inserida no grupo das bactérias aeróbias mesófilas [46], como é o caso dos estafilococos [47].

Na avaliação de *Staphylococcus* coagulase positiva, todas as amostras reagiram negativamente à prova da coagulase. No entanto, houve contagem mínima de 7,70 log¹⁰UFC/g e máxima de 8,00 log¹⁰UFC/g para *Staphylococcus spp.*, sendo os menores valores atribuídos à presença de algum dos compostos naturais utilizados na produção das coberturas, em especial a SQ, apesar de não significativo estatisticamente (Tabela 3). A ação da quitosana sobre bactérias como *S. aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* foi observada em estudo juntamente com a *Mentha aquatica* L., em queijo branco iraniano, com notável inibição [48]. Cepas de *S. aureus* foram inoculadas em queijo do tipo Minas frescal e a redução do crescimento microbiano foi evidenciada nas amostras tratadas com quitosana em concentração de 20 mg/mL até o dia 20 [49].

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são consideradas ameaças na indústria alimentícia, já que resistem muito bem às condições ambientais desfavoráveis como seca, calor e estresse salino. Considerado um patógeno em potencial, pode causar desde infecções leves até intoxicação por meio de toxinas liberadas, como a enterotoxina estafilocócica, que persiste no alimento mesmo com a morte do micro-organismo [50].

Dados apontam que entre 2008 e 2018, a ingestão de derivados lácteos foi a quarta maior causa de surtos alimentícios no Brasil, sendo as bactérias os agentes mais perigosos devido à sua letalidade [51]. A contaminação por *S. aureus*, por exemplo, pode ocorrer desde a ordenha do leite até o final do processamento, mesmo que sejam utilizados tratamentos térmicos para inativá-lo. A ausência dessas bactérias em grande quantidade no queijo pode indicar a baixa

concentração do contaminante no leite e bons métodos produtivos, tendo em vista que o armazenamento inadequado e as más condições higiênico-sanitárias irão aumentar o risco de infecção nos consumidores [52].

Sobre bolores e leveduras, foram observadas reduções microbianas para os tratamentos SQ, EH e SQEH, em relação ao CO. Quanto ao EH, os resultados estão, provavelmente, relacionados ao potencial antifúngico da *P. granatum* L., descrito por Akroum (2017) [53], Souza et al. (2018) [54] e Santos et al. (2017) [55]. Essa importante atividade antimicrobiana é relatada na literatura, indicando uma relação com os compostos bioativos do fruto (taninos e alcalóides), amplamente explorados na pesquisa terapêutica e medicina popular [55-57]. Estudo de Alexandre et al. (2018) [58] destaca a utilização da romã como uma promissora matéria-prima na produção de extratos com potencial de conservação, em especial da casca, que apresenta quantidades elevadas dos compostos citados e cujo aumento da demanda se deu graças à consciência sanitária entre os consumidores.

Resultados semelhantes ao deste trabalho foram encontrados ao utilizar o extrato da casca da romã em queijo Kalari, no dia 7, o queijo tratado com extrato de romã a 1% apresentou crescimento fúngico de $0,56 \pm 0,09$ log cfu/g, enquanto o queijo tratado com o extrato a 2% apresentou $0,32 \pm 0,001$ log cfu/g, ou seja, apresentando relação inversamente proporcional à concentração do extrato de romã [59].

Além de EH, SQ e SQEH também apresentaram valores significativos, conferido à presença da quitosana. A atividade antifúngica da quitosana encontra-se associada a danos estruturais que alteram a permeabilidade da membrana plasmática ocasionando a desregulação osmótica, nesse caso, levando ao extravasamento do conteúdo celular. Além disso, o composto pode inibir a germinação de esporos e o crescimento micelial e afetar a expressão gênica, interferindo na biossíntese de proteínas [60], o que torna a quitosana uma alternativa viável no controle fúngico.

Os dados obtidos com a pesquisa são de extrema relevância, considerando as características do queijo coalho e a importância que sua contaminação assume para a saúde pública, tendo em vista o potencial de causar doenças transmitidas por alimentos (DTAs). Assim como os humanos podem ser beneficiados pelas características nutritivas do queijo, os micro-organismos também, inclusive os estudados neste trabalho – mesófilos, *Staphylococcus* spp. e bolores e leveduras [61].

4. CONCLUSÃO

A utilização de coberturas comestíveis a base de quitosana e extrato de romã (*Punica granatum* L.) mostrou-se como uma alternativa na manutenção de alguns parâmetros de qualidade do queijo coalho, não afetando de forma negativa o aspecto sensorial desse alimento e, ao mesmo tempo, apresentando efeito antimicrobiano frente aos bolores e leveduras. Apesar dos resultados obtidos na pesquisa, destaca-se que mais estudos devem ser realizados a fim de determinar seu efeito em outros parâmetros de qualidade do produto e gerar dados complementares.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tilocca B, Costanzo N, Morittu VM, Spina AA, Soggiu A, Britti D, et al. Milk microbiota: Characterization methods and role in cheese production. *Journal of Proteomics*. 2020 Jan;210:103534, doi: 10.1016/j.jprot.2019.103534
2. Kamimura BA, De Filippis F, Sant'Ana AS, Ercolini D. Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Brazilian cheeses. *Food Microbiology*. 2019 Dec;80:40-9. doi: 10.1016/j.fm.2018.12.014
3. Lima MSF, Silva RA, Lima Filho JL, Porto ALF, Cavalcanti MTH. Queijo de coalho artesanal: fonte alternativa de peptídeos antimicrobianos. *Brazilian Journal of Food Technology*. 2017 Jul;20:1-7. doi: 10.1590/1981-6723.19316.
4. Margalho LP, Van Schalkwijk S, Bachmann H, Sant'Ana AS. *Enterococcus* spp. in Brazilian artisanal cheeses: Occurrence and assessment of phenotypic and safety properties of a large set of strains through the use of high throughput tools combined with multivariate statistics. *Food Control*. 2020 Jun;118:107425. doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107425
5. Mileriene J, Serniene L, Kondrotiene K, Lauciene L, Kasetiene N, Sekmokiene D, et al. Quality and nutritional characteristics of traditional curd cheese enriched with thermo-coagulated acid whey protein

- and indigenous *Lactococcus lactis* strain. International Journal of Food Science & Technology. 2020 Nov;56(6):2853-63. doi: 10.1111/ijfs.14922
6. Guimarães A, Ramos Ó, Cerqueira M, Venâncio A, Abrunhosa L. Active whey protein edible films and coatings incorporating *Lactobacillus buchneri* for *Penicillium nordicum* control in cheese. Food Bioprocess Technol. 2020 May;13:1074-86. doi: 10.1007/s11947-020-02465-2
 7. Fox PF, Guinee TP, Cogan TM, Mcsweeney PLH. Fundamentals of Cheese Science. 2. ed. Boston (MA): Springer; 2017.
 8. Sharma R, Jafari SM, Sharma S. Antimicrobial bio-nanocomposites and their potential applications in food packaging. Food Control. 2020 Jan;112(2020):107086. doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107086
 9. Rodrigues HGA, Siqueira ACP, Santana LCLA. Application of edible coatings based on chitosan and cassava starch incorporated with tamarind seed extract in the preservation of guavas. Research, Society and Development. 2020 Apr;9(6):e119963695. doi: 10.33448/rsd-v9i6.3695
 10. Wu C, Zhu Y, Wu T, Wang L, Yuan Y, Chen J, et al. Enhanced functional properties of biopolymer film incorporated with curcumin-loaded mesoporous silica nanoparticles for food packaging. Food Chemistry. 2019 Aug;288:139-45. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.03.010
 11. Vilela C, Pinto RJB, Coelho J, Domingues MRM, Daina S, Sadocco P, et al. Bioactive chitosan/ellagic acid films with UV-light protection for active food packaging. Food Hydrocolloids. 2017 Dec;73:120-28. doi: 10.1016/j.foodhyd.2017.06.037
 12. Jiang Y, Yu L, Hu Y, Zhu Z, Zhuang C, Zhao Y, et al. The preservation performance of chitosan coating with different molecular weight on strawberry using electrostatic spraying technique. International Journal of Biological Macromolecules. 2020 May;151:278-85. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.169
 13. Tavares TS, Rocha DA, Queiroz ER, Abreu CMP, Oliveira AM, Oliveira Junior EN. Chitosan coatings in the maintenance of strawberry quality during refrigerated storage. Brazilian Journal of Development. 2019 Jun;5(6):5434-48. doi: 10.34117/bjdv5n6-081
 14. Ferreira LF, Figueiredo LP, Martins MA, Luvizaro LB, Lara BRB, Oliveira CR, et al. Active coatings of thermoplastic starch and chitosan with alpha-tocopherol/bentonite for special green coffee beans. International Journal of Biological Macromolecules. 2021 Feb;170:810-9. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.12.199
 15. Dias JGS, Reis CA, Guimarães Júnior M, Vaz LEV. Avaliação das propriedades de barreira de filmes de quitosana/montmorilonita para revestimento de couve de folhas (*Brassica oleracea L. var. acephala*). Revista Brasileira de Iniciação Científica. 2018 Jun;5(3):16-27.
 16. Shah S, Hashmi MS. Chitosan-aloe vera gel coating delays postharvest decay of mango fruit. Horticulture, Environment, and Biotechnology. 2020 Feb;61:279-89. doi: 10.1007/s13580-019-00224-7
 17. Duran A, Khave HI. The effect of chitosan coating and vacuum packaging on the microbiological and chemical properties of beef. Meat Science. 2020 Apr;162(2020):107961. doi: 10.1016/j.meatsci.2019.107961
 18. Nottagh S, Hesari J, Peighambaroust SH, Rezaei-Mokarran R, Jafarizadeh-Malmiri H. Effectiveness of edible coating based on chitosan and Natamycin on biological, physico-chemical and organoleptic attributes of Iranian ultra-filtrated cheese. Biologia. 2020 Nov;75:605-11. doi: 10.2478/s11756-019-00378-w
 19. El-Sisi AS, Gagr AE-SM, Kamaly K. Use of chitosan as an edible coating in RAS cheese. Biolife. 2015 Jun;3(2):564-70. doi: 10.17812/blj2015.32.32
 20. Alsaggaf MS, Moussa SH, Tayel AA. Application of fungal chitosan incorporated with pomegranate peel extract as edible coating for microbiological, chemical and sensorial quality enhancement of Nile tilapia fillets. International Journal of Biological Macromolecules. 2017 Mar;99(2017):499-505. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.03.017
 21. Kumar N, Daniloski D, Pratibha, Neeraj, D'Cunha NM, Naumovski N, et al. Pomegranate peel extract – A natural bioactive addition to novel active edible packaging. Food Research International. 2022 Jun;156(2022):111378. doi: 10.1016/j.foodres.2022.111378
 22. Hassan EA, Hifney AF, Ali EF, Sayed AM. Fungicidal activities and molecular docking of the marine alga *Ulva lactuca* and *Punica granatum* peel extracts on *Alternaria* tomato spot disease. Environmental Science and Pollution Research. 2022 Oct;2020(2020):1-16 doi: 10.1007/s11356-022-23733-y
 23. Nassu RT, Macedo BA, Lima MHP. Queijo de Coalho. 1. ed. Brasília (DF): EMBRAPA; 2006.
 24. Araujo JBC, Pimentel JCM, Paiva FFA, Macedo BA. Produção artesanal de queijo coalho, ricota e bebida láctea em agroindústria familiar: Noções de boas práticas de fabricação. 1 ed. Brasília (DF): Embrapa; 2012.
 25. Gorrasi G, Bugatti V, Tammara L, Vertuccio L, Vigliotta G, Vittoria V. Active coating for storage of Mozzarella cheese packaged under thermal abuse. Food Control. 2016 Dez;64(2016):10-6. doi: 10.1016/j.foodcont.2015.12.002

26. Costa TLE, Oliveira TA, Santos FKG, Aroucha MM, Leite RHL. Avaliação de coberturas comestíveis compostas por quitosana e argila no revestimento em tomates sob refrigeração pelo método *dipping*. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. 2012 Dez;7(5):12-9.
27. Araújo VR, Shirai MA. Aplicação de revestimento comestível de quitosana em brócolis minimamente processado. Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos. 2016 Dez;34(2):1-10. doi: 10.5380/cep.v34i2.53188
28. Jacometti GA, Meneghel RFA, Yamashita F. Aplicação de revestimentos comestíveis em pêssego (*Prunus persica*). Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2003 Abr;23(1):95-100. doi: 10.1590/S0101-20612003000100020
29. Brasil. Ministério da Saúde, Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Aprova as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. Brasília (DF): Diário Oficial da União; 2013. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466_12_12_2012.html
30. Dutcosky SD. Análise sensorial de alimentos. 5 ed. Curitiba (PR): Champagnat; 2013.
31. Hautrive TP, Oliveira VR, Silva ARD, Terra NN, Campagnol PCB. Análise físico-química e sensorial de hambúrguer elaborado com carne de avestruz. Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2008 Dez;28(Supl):95-101. doi: 10.1590/S0101-20612008000500016
32. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa da Agricultura. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Anexo: Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Brasília (DF); 2003. Disponível em: <https://pesquisa.in.gov.br/imprensa/jsp/visualiza/index.jsp?data=18/09/2003&jornal=1&pagina=14&totalArquivos=256>
33. American Public Health Association (APHA). Compendium of the methods for the microbiological examination of foods. 5 ed. Washington (DC): Amer Public Health Assn; 2001.
34. Wei T, Simko V. Corplot: Visualization of a correlation matrix; [citado em 20 jan 2019]. Available from: <https://cran.r-project.org/web/packages/corplot/index.html>
35. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. 3 ed. Vienna (AT): R Foundation for Statistical Computing; 2018.
36. El-Sayed SM, El-Sayed HS, Ibrahim OA, Youssef AM. Rational design of chitosan/guar gum/zinc oxide bionanocomposites based on *Roselle calyx* extract for Ras cheese coating. Carbohydrate Polymers. 2020 Apr; 239:116234. doi: 10.1016/j.carbpol.2020.116234
37. Stone H, Bleibaum RN. Avaliação sensorial. In: Campbell-Platt G, editor. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Barueri (SP): Manole; 2015. p. 337-54.
38. Wang Q, Yu H, Tian B, Jiang B, Xu J, Li D, et al. Novel edible coating with antioxidant and antimicrobial activities based on whey protein isolate nanofibrils and carvacrol and its application on fresh-cut cheese. Coatings. 2019 Sep;9(9):583. doi: 10.3390/coatings9090583
39. Molina-Hernández JB, Echeverri Castro A, Martínez-Correa HA, Andrade-Mahecha MM. Edible coating based on achira starch containing garlic/oregano oils to extend the shelf life of double cream cheese. Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín. 2020 Aug;73(1):9099-108. doi: 10.15446/rfnam.v73n1.75234
40. Berti S, Ollé Resa CP, Basanta F, Gerschenson LN, Jagus RJ. Edible coatings on gouda cheese as a barrier against external contamination during ripening. Food Bioscience. 2019 Aug;31(2019):100447. doi:10.1016/j.fbio.2019.100447
41. Siriwardana J, Wijesekara I. Analysis of the effectiveness of an antimicrobial edible coating prepared from sweet whey base to improve the physicochemical, microbiological, and sensory attributes of swiss cheese. Advances in Agriculture. 2021 Mar; 2021(2021):1-13. doi: 10.1155/2021/5096574
42. Rocha RS, Calvalcanti RN, Silva R, Guimarães JT, Balthazar CF, Pimentel TC, et al. Consumer acceptance and sensory drivers of liking of Minas Frescal Minas cheese manufactured using milk subjected to ohmic heating: Performance of machine learning methods. LWT. 2020 May;126(2020):109342. doi: 10.1016/j.lwt.2020.109342
43. Goulart GS, Lucchese-Cheung T, Lima-Filho DO. Teste sensorial de um produto alimentar inovador: a neofobia alimentar como possível barreira no setor de alimentos. Holo. 2017;1(2017):76-90. doi: 10.15628/holos.2017.2905
44. Mendonça A, Sousa F, Fernandes A, Carvalho M, Neto I, Gomes S. Percepção dos consumidores sobre as características sensoriais do Queijo de Cabra Transmontano de Cura Extra Longa. Revista de Ciências Agrárias. 2017 Dez;40(esp):309-20. doi: 10.19084/RCA16205
45. Poghossian A, Geissler H, Schoning MJ. Rapid methods and sensors for milk quality monitoring and spoilage detection. Biosensors and Bioelectronics. 2019 Sep;140:111-272. doi: 10.1016/j.bios.2019.04.040
46. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos Alimentos. 2 ed. São Paulo (SP): Ateneu; 2008.

47. Alem K. Bacterial load assessment of some food items sold in street in Woldia town, North-east Ethiopia. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 2020 Sep;14(3):1845-54. doi: 10.22207/JPAM.14.3.23
48. Zavareh SAHT, Ardestani F. Antibacterial effects of chitosan coating containing *Mentha aquatica* L. essence against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Iranian white cheese. *International Journal of Dairy Technology*. 2020 Jan;70(3):1-9. doi: 10.1111/1471-0307.12678
49. Pereira RBM, Fonte RAB, Barros DM, Machado ECL, Oliveira MG, Moura DF, et al. Quitosana em queijo minas frescal: ação antibacteriana sob cepa patogênica e nos atributos sensoriais. *Brazilian Journal of Health Review*. 2018 Dez;1(2):342-363.
50. Rubab M, Shahbaz HM, Olaimat AN, Oh D-H. Biosensors for rapid and sensitive detection of *Staphylococcus aureus* in food. *Biosensors and Bioelectronics*. 2018 Jan;105:49-57. doi: 10.1016/j.bios.2018.01.023
51. Mendes DMS, Bastos BV, Koki CR, Bach D, Contini GK, Mattos LA, et al. Assessment of microbial contamination in products of animal origin: Stretched-curd cheese, yogurt and fresh sausage, Brazilian archives of biology and technology. 2020 Sep;63(20190759):1-7. doi: 10.1590/1678-4324-2020190759
52. Queiroz MM, Rossi BF, Castilho IG, Rall VLM. Hygienic-sanitary quality of minas fresh cheese sold in the city of Botucatu, São Paulo. *Arquivo do Instituto Biológico*. 2017 Fev;84:1-6. doi: 10.1590/1808-1657000292016
53. Akroum S. Antifungal activity of acetone extracts from *Punica granatum* L., *Quercus suber* L. and *Vicia faba* L. *Journal de Mycologie Médicale*. 2017 Mar;27(1),83-9. doi: 10.1016/j.mycmed.2016.10.004
54. Souza NCF, Gonzaga LF, Rodrigues JFS, Fernandes ES. Propriedades farmacológicas de *Punica granatum* L (romã): Uma revisão de literatura. *Revista CEUMA Perspectiva*. 2018 Jan;31:57-67. doi: 10.24863/rccp.v31i1.181
55. Santos MGC, Nóbrega DRM, Arnaud RR, Santos RC, Gomes DQC, Pereira JV. *Punica granatum* Linn. prevention of oral candidiasis in patients undergoing anticancer treatment. *Revista de Odontologia da UNESP*. 2017 Fev;46(1):33-8. doi: 10.1590/1807-2577.24015
56. Martins FWP, Casali AK. Atividade antimicrobiana in vitro de extratos etanólicos de Romã (*Punica granatum* L.) sobre as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. *Brazilian Journal of Development*. 2019 Nov;5(11): 22970-80. doi: 10.34117/bjdv5n11-027
57. Hanani ZAN, Yee FC, Nor-Khaizura MAR. Effect of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel powder on the antioxidant and antimicrobial properties of fish gelatin films as active packaging. *Food Hydrocolloids*. 2018 Apr;89(2018):253-9. doi: 10.1016/j.foodhyd.2018.10.007
58. Alexandre EMC, Silva S, Santos SAO, Silvestre AJD, Duarte MF, Saraiva JA, et al. Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts performed by high pressure and enzymatic assisted extraction. *Food Research International*. 2018 Aug;15:167-76. doi: 10.1016/j.foodres.2018.08.044
59. Mahajan D, Bhat ZF, Kumar S. Pomegranate (*Punica granatum*) rind extract as a novel preservative in cheese. *Food Bioscience*. 2015 Jul;12(2015):47-53. doi: 10.1016/j.fbio.2015.07.005
60. Meng D, Garba B, Ren Y, Yao M, Xia X, Li M, et al. Antifungal activity of chitosan against *Aspergillus ochraceus* and its possible mechanisms of action. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020 Apr;158(2020):1063-70. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.04.213
61. Bezerra DEL, Silva Filho CRM, Gomes DJ, Pereira Junior EB. Avaliação microbiológica de queijo de coalho comercializado na feira livre de Sousa – Paraíba. *Revista Principia*. 2017 Sep;1(37):85-91.