



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA**

DAYANE DE MELO BARROS

**MICROPARTÍCULAS DE ALGINATO CONTENDO EUGENOL: ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA E INFLUÊNCIA ORGANOLÉPTICA EM QUEIJO DE
COALHO**

**RECIFE
2022**

DAYANE DE MELO BARROS

**MICROPARTÍCULAS DE ALGINATO CONTENDO EUGENOL: ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA E INFLUÊNCIA ORGANOLÉPTICA EM QUEIJO DE
COALHO**

Tese apresentada como um dos requisitos
para o cumprimento parcial das exigências
para obtenção do título de Doutora em
Bioquímica e Fisiologia pela Universidade
Federal de Pernambuco.

Orientador: Ranilson de Souza Bezerra

Coorientadora: Erilane de Castro Lima
Machado

**RECIFE
2022**

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB4/1788

Barros, Dayane de Melo

Micropartículas de alginato contendo eugenol : atividade antimicrobiana e influência organoléptica em queijo de coalho / Dayane de Melo Barros. – 2022.

130 f. : il.

Orientador: Ranilson de Souza Bezerra.

Coorientadora: Erilane de Castro Lima Machado.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia, Recife, 2022.

Inclui referências e anexos.

1. Tecnologia de alimentos. 2. Laticínios. 3.. Queijo - Indústria. 3. I.Bezerra, Ranilson de Souza (orientador). II. Machado, Erilane de Castro Lima (coorientadora). III. Título.

664

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2022-194

DAYANE DE MELO BARROS

**MICROPARTÍCULAS DE ALGINATO CONTENDO EUGENOL: ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA E INFLUÊNCIA ORGANOLÉPTICA EM QUEIJO DE
COALHO**

Tese apresentada como um dos requisitos
para o cumprimento parcial das exigências
para obtenção do título de Doutora em
Bioquímica e Fisiologia pela Universidade
Federal de Pernambuco.

Área de concentração: Bioquímica e
Fisiologia.

Aprovado em: 07/02/2022

BANCA EXAMINADORA

Ranilson de Souza Bezerra
Universidade Federal de Pernambuco

Maria Tereza dos Santos Correia
Universidade Federal de Pernambuco

Thiago Henrique Napoleão
Universidade Federal de Pernambuco

Andrelina Maria Pinheiro Santos
Universidade Federal de Pernambuco

Roberta de Albuquerque Bento da Fonte
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este trabalho a Deus por sua grandiosa bondade e generosidade em minha vida, concedendo-me a capacidade para o desenvolvimento deste estudo. À minha família, pela demonstração de amor, fé, carinho e incentivo para a realização do estudo. E ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia – PGBqF e às pessoas com quem eu compartilhei e produzi conhecimentos muito importantes para a minha qualificação profissional.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelas bênçãos e por tudo que tem realizado em minha vida. Deus é bom o tempo todo e tudo que Ele oferece tem como propósito o bem.

A minha mãe, Edijane, pai, Manoel, avó Carminha e irmã, Danielle pelo amor, dedicação, incentivo e compreensão. Obrigada por todo o apoio e pela ajuda, que muito contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao meu orientador, Ranilson Bezerra pela oportunidade e confiança para a elaboração deste estudo.

A minha coorientadora Erilane Machado pelos ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação acadêmica e profissional.

A professora Mariane Cajubá pelo empenho dedicado e valiosas contribuições para a pesquisa.

A Universidade Federal de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Bioquímica e Fisiologia (PGBqF) por viabilizar a realização do doutorado.

Aos professores do programa PGBqF, por proporcionarem conhecimentos e ensinamentos de forma direta ou indireta, sobre a arte de ensinar.

À FACEPE, pelo apoio financeiro, o qual foi importante para o desenvolvimento desta pesquisa.

E a todos aqueles que contribuíram de alguma forma, para a realização deste trabalho.

“Consagre ao Senhor
tudo o que você faz,
e os seus planos serão bem-sucedidos”
Provérbios 16.3

RESUMO

O queijo de coalho é considerado um dos derivados lácteos mais consumidos no Brasil, principalmente na região Nordeste e sua produção é predominantemente artesanal, tornando-o altamente suscetível a contaminantes microbiológicos. Vários estudos sobre a avaliação da qualidade microbiológica do queijo de coalho evidenciaram uma quantidade considerável de microrganismos patogênicos e deteriorantes excedendo, muitas vezes, os limites estabelecidos pela legislação. Sendo assim, se faz necessário determinar mecanismos eficazes para a conservação do queijo de coalho garantindo a qualidade nutricional e segurança microbiológica. Com o aumento da demanda do mercado consumidor por opções alimentares mais saudáveis e sem aditivos químicos, os Óleos Essenciais (OEs) e seus fitoconstituintes podem ser alternativas para a conservação de alimentos. Uma grande quantidade de componentes de OEs tem demonstrado várias propriedades bioativas incluindo, antioxidante e antimicrobiana. Dentre estes o eugenol, composto majoritário do óleo essencial de cravo-da-índia, tem recebido destaque devido a sua eficiência na inibição de bactérias contaminantes de alimentos. Entretanto, devido aos seus aspectos intrínsecos como a aromaticidade e alta volatilidade, o eugenol pode modificar as características sensoriais do alimento como cor, sabor, odor e textura. Isto, pode ser contornado através da microencapsulação do eugenol que além de contribuir para a proteção e otimização das atividades bioativas do eugenol, mantém os aspectos específicos do alimento. Diante disso, o objetivo do estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana e influência organoléptica de micropartículas de eugenol em queijo de coalho. O sistema de encapsulamento se mostrou eficaz ao capsular 87,3% da substância ativa. O tamanho médio das partículas foi de 1,21 μm , o que é favorável para adição em alimentos, e o índice de polidispersão (0,15) evidenciou distribuição uniforme. O potencial zeta apresentou um valor de -5,86mV, a eletronegatividade obtida está relacionada com a estrutura química da matriz polimérica. As micropartículas quando úmidas, apresentaram formato esférico e uniforme através de microscopia óptica. Porém, quando avaliadas após secagem por microscopia eletrônica de varredura foi observada morfologia irregular. Quanto à atividade antimicrobiana, as micropartículas foram significativamente eficientes *in vitro* e em queijo de coalho (*in situ*). Os atributos sensoriais das amostras de queijo de coalho com e sem micropartículas foram considerados similares exceto para o atributo textura (compacidade). No teste de intenção de compra, as amostras de queijo de coalho padrão apresentaram o melhor resultado quanto ao termo hedônico certamente compraria o produto. As amostras de queijo de coalho com micropartículas de alginato contendo eugenol receberam a melhor avaliação no

termo provavelmente compraria o produto. Dessa forma, pode-se inferir que a utilização de micropartículas de alginato contendo eugenol pode ser uma alternativa promissora de conservante natural para adição em alimentos.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana; Conservação; Derivados lácteos; Fitoconstituintes. Microencapsulação.

ABSTRACT

Coalho cheese is considered one of the most consumed dairy products in Brazil, mainly in the Northeast region and its production is predominantly artisanal, making it highly susceptible to microbiological contaminants. Several studies on the evaluation of the microbiological quality of coalho cheese showed a considerable amount of pathogenic and deteriorating microorganisms, often exceeding the limits established by legislation. Therefore, it is necessary to determine effective mechanisms for the conservation of coalho cheese, ensuring nutritional quality and microbiological safety. With the increase in consumer market demand for healthier food options without chemical additives, Essential Oils (EOs) and their phytoconstituents can be alternatives for food preservation. A large number of EO components have demonstrated various bioactive properties including antioxidant and antimicrobial. Among these, eugenol, the major compound in clove essential oil, has been highlighted due to its efficiency in inhibiting food-contaminating bacteria. However, due to its intrinsic aspects such as aromaticity and high volatility, eugenol can modify the sensory characteristics of food such as color, flavor, odor and texture. This can be circumvented through the microencapsulation of eugenol which, in addition to contributing to the protection and optimization of the bioactive activities of eugenol, maintains the specific aspects of the food. Therefore, the aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity and organoleptic influence of eugenol microparticles in coalho cheese. The encapsulation system proved to be effective in encapsulating 87.3% of the active substance. The average particle size was 1.21 μm , which is favorable for addition to foods, and the polydispersity index (0.15) showed uniform distribution. The zeta potential showed a value of -5.86mV, the electronegativity obtained is related to the chemical structure of the polymer matrix. The microparticles when wet, showed a spherical and uniform shape by optical microscopy. However, when evaluated after drying by scanning electron microscopy, irregular morphology was observed. As for the antimicrobial activity, the microparticles were significantly efficient *in vitro* and in coalho cheese (*in situ*). The sensory attributes of the coalho cheese samples with and without microparticles were considered similar except for the texture attribute (compactness). In the purchase intent test, the standard curd cheese samples presented the best result regarding the hedonic term would certainly buy the product. Coalho cheese samples with eugenol-containing alginate microparticles received the best evaluation in the term would probably buy the product. Thus, it can be inferred that the use of alginate

microparticles containing eugenol can be a promising alternative of natural preservative for addition in foods.

Keywords: Antimicrobial activity; Conservation; Dairy derivatives; Phytoconstituents; Microencapsulation.

LISTA DE FIGURAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Figura 1 –	Fotos ilustrativas da árvore (a), folha (b), cravo-da-índia em flor (c) e cravo-da-índia seco (d).....	25
Figura 2 –	Estrutura química do eugenol.....	26
Figura 3 –	Morfologia das micropartículas: microcápsula e microesfera	31
Figura 4 –	Estrutura química do alginato ou ácido algínico.....	32

ARTIGO 1

Figura 1 –	Fluxograma do processo de produção do queijo de coalho.....	39
Figura 2 –	Ficha de avaliação descritiva de queijos de coalho com e sem micropartículas de alginato contendo eugenol.....	43
Figura 3 –	Micrografias ópticas das micropartículas sem (A) e com adição de eugenol (B)	46
Figura 4 –	Microscopia Eletrônica de Varredura das micropartículas sem (A) e com adição de eugenol (B).....	47
Figura 5 –	Gráfico radar com as médias dos atributos das amostras de queijo de coalho padrão e com micropartículas de alginato contendo eugenol.....	51
Figura 6 –	Teste de intenção de compra das amostras de queijo de coalho padrão e com micropartículas de alginato contendo eugenol.....	52

ARTIGO 2

Figura 1 –	Microsphere (A): the nucleus is distributed in a polymer matrix; Microcapsule (B) the core is surrounded by the encapsulating agent (polymer)	60
-------------------	---	----

Figura 2 –	Different stages of preparation of alginate capsules by the internal ionic gelation method	69
Figura 3 –	Particle production by external ionic gelation	70

ARTIGO 3

Figura 1 –	Fluxograma geral do processo de produção do queijo de coalho	87
-------------------	--	----

Capítulo de Livro

Figura 1 –	Frequência do consumo de queijo de coalho	113
Figura 2 –	Motivos atribuídos ao consumo de queijo de coalho	113
Figura 3 –	Local de aquisição do queijo de coalho	114
Figura 4 –	Tipo de embalagem para a aquisição do queijo de coalho	115

LISTA DE TABELAS

REFERENCIAL TEÓRICO

Tabela 1 –	Exemplos de agentes encapsulantes.....	31
-------------------	--	----

ARTIGO 1

Tabela 1 –	Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do eugenol e micropartículas de eugenol.....	47
Tabela 2 –	Curva de sobrevivência de <i>S. aureus</i> em queijo de coalho com eugenol adicionada à massa do produto armazenados por 30 dias sob refrigeração .	49
Tabela 3 –	Definição dos atributos definidos pelos provadores.....	49
Tabela 4 –	Média das notas por atributo para cada amostra de queijo de coalho.....	50

ARTIGO 2

Tabela 1 –	Encapsulating agents used in encapsulation according to their origin	61
Tabela 2 –	Classification of encapsulation techniques	63
Tabela 3 –	Application of microencapsulation methods in the food industry	63

ARTIGO 3

Tabela 1 –	Aspectos físico-químicos e sensoriais do queijo de coalho	86
Tabela 2 –	BPF a serem adotadas na unidade produtora de queijo de coalho.....	96

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µg	Micrograma
µL	Microlitro
µg/mL	Micrograma por mililitros
µm	Micrômetro
µM	Micromolar
ADAGRO	Agência de Defesa e Fiscalização Agropecuária do Estado de Pernambuco
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ATCC	American Type Culture Collection
ATP	Adenosine triphosphate
ATPases	Adenosinatrifosfatases
Aw	Atividade de água
BOD	Biochemical Oxygen Demand
BPFs	Boas Práticas de Fabricação
°C	Grau Celsius
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CBM/MBC	Concentração Bactericida Mínima
CIM/MIC	Concentração Inibitória Mínima
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DMSO	dimetilsulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DVA	Doenças Veiculadas por Alimentos
ERN	Espécies Reativas de Nitrogênio
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
FDA	Food and Drug Administration
GRAS	Generally Recognized as Safe
g/L	Grama por litro
g/mL	Grama por mililitro
H ⁺	Hidrogênio
IAA	Atividade Antioxidante

IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LPS	Lipopolissacarídeos
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mg	Miligrama
mg/kg	Miligrama por quilograma de peso
mL	Mililitro
mM	Milimolar
MS	Ministério da Saúde
OE/ OEs	Óleo essencial/Óleos Essenciais
OMS/ WHO	Organização Mundial de Saúde
PAA	Programa de Aquisição de Alimentos
PDQ	Perfil Descritivo Quantitativo
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Partes por milhão
PRONAF	Programa Nacional de Agricultura Familiar
PVC	Policloreto de Vinila
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RNA	Ácido ribonucleico
ROO	Radical peroxila
SEBRAE	Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas
SUASA	Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
Tween 20	Monolaurato de polioxietileno 20 sorbitano
Tween 80	Mono-oleato de polioxietileno 20 sorbitano
UFPE/ CAV	Universidade Federal de Pernambuco/ Centro Acadêmico de Vitória
WPC	Whey Proteins

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	18
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	20
2.1	QUEIJO DE COALHO ARTESANAL.....	20
2.2	CONTAMINAÇÃO DE QUEIJO DE COALHO ARTESANAL POR MICROORGANISMOS INDICADORES.....	21
2.3	ALTERNATIVAS NATURAIS PARA ALCANÇAR A ESTABILIDADE MICROBIANA DOS ALIMENTOS.....	23
2.4	ÓLEO ESSENCIAL (OE) E FITOQUÍMICOS: CRAVO-DA-ÍNDIA E EUGENOL.....	23
2.4.1	Utilização do eugenol na conservação dos alimentos.....	26
2.4.2	Atividade antioxidante do eugenol	27
2.4.3	Atividade antibacteriana do eugenol	28
2.5	DESAFIOS ENFRENTADOS ACERCA DA UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E FITOCONSTITUINTES NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA.....	29
2.6	MICROENCAPSULAÇÃO	30
2.6.1	Material de parede – Alginato	31
2.6.2	Gelificação iônica.....	32
3	OBJETIVOS	34
3.1	OBJETIVO GERAL	34
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
4	ARTIGO 1- MICROPARTÍCULAS DE ALGINATO ADICIONADAS DE EUGENOL: ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E INFLUÊNCIA ORGANOLÉPTICA EM QUEIJO DE COALHO	35
5	ARTIGO 2- POTENTIAL APPLICATION OF MICROENCAPSULATION IN THE FOOD INDUSTRY.....	58
6	ARTIGO 3- ASPECTOS DO QUEIJO DE COALHO COM ÊNFASE NA IMPORTÂNCIA DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO NO SISTEMA DE PRODUÇÃO	80
7	CAPÍTULO DE LIVRO - CARACTERIZAÇÃO DO CONSUMIDOR DE QUEIJO DE COALHO NO INTERIOR DE PERNAMBUCO	108

8	CONCLUSÕES.....	119
	REFERÊNCIAS	120
ANEXO	COMPROVANTE DE APROVAÇÃO DO PROJETO PELO COMITÊ DE	
	ÉTICA	130

1 INTRODUÇÃO

Os queijos artesanais são derivados lácteos produzidos de formas diferentes, o que determina a sua identidade e padrão de qualidade. No Brasil, vários tipos de queijos são elaborados de forma artesanal, dentre estes, o queijo de coalho, alimento típico da região Nordeste, que se destaca pelo elevado aporte nutricional e versatilidade sendo, capaz de atender a distintos grupos sociais, econômicos e étnicos (DANTAS et al., 2013; MEDEIROS et al., 2016).

A maioria dos queijos de coalho artesanais mesmo com sua popularidade e importância socioeconômica muitas vezes, não atende às exigências estabelecidas pela legislação, sobretudo, no diz respeito a elevada suscetibilidade de contaminação por microrganismos patogênicos que ocorre devido à utilização de leite cru e a falta de Boas Práticas de Fabricação (BPF). Em consequência das condições de processamento, vários estudos têm evidenciado a contaminação do queijo de coalho por microrganismos deteriorantes e patogênicos. Sendo assim, faz-se necessário estabelecer mecanismos que permitam a conservação do queijo de coalho garantindo um produto de qualidade e seguro para o consumidor (VIDAL, 2011; ANDRADE et al., 2011; CARVALHO et al., 2019).

Os aditivos químicos sintéticos são comumente utilizados para a conservação e aumento da vida útil dos alimentos, no entanto, nos últimos anos, a crescente demanda por produtos mais saudáveis e seguros vem contribuindo para que os consumidores prefiram ingredientes naturais em vez de sintéticos. Como alternativa aos conservantes sintéticos, a utilização de sistemas naturais tem sido avaliada com potencial promissor para garantir a segurança microbiológica e qualidade dos produtos alimentícios (FUJISAWA, 2014; DOLGOPOLOVA; TEUBER, 2018; RADÜNZ et al., 2019; GEBHARDT et al., 2020; MANTOVAN et al., 2022).

O interesse na utilização dos Óleos Essenciais (OEs) e seus constituintes como conservantes naturais têm cada vez mais aumentado, pois, estes compostos desempenham elevada atividade antioxidante e antimicrobiana podendo contribuir efetivamente para a inibição do crescimento de patógenos e/ou redução da oxidação lipídica em alimentos. Dentre os OEs mais avaliados em alimentos, o óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* L.) tem sido considerado uma opção favorável de conservante alimentar natural devido a sua atividade antimicrobiana, a qual está atribuída à presença do seu componente majoritário, o eugenol, que tem demonstrado eficiência na inibição de

bactérias contaminantes de alimentos tais como, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* e *Listeria monocytogenes* (BERALDO et al., 2013; IRKIN; ESMER, 2015; RESENDE et al., 2017; HASSOUN; ÇOBAN, 2017).

Mesmo com a vantajosa a atividade antimicrobiana do eugenol, este constituinte pode modificar consideravelmente aspectos como aroma, sabor, cor e textura do alimento. Assim, a encapsulação pode contribuir para ação antimicrobiana eficiente do eugenol sem afetar a qualidade organoléptica do produto, além de otimizar a solubilidade e melhorar a estabilidade do material encapsulado (FAVARO-TRINDADE et al., 2008; TAJKARIMI; IBRAHIM; CLIVER, 2010; NEDOVIC et al., 2011; DELSHADI et al., 2020). Diante desta perspectiva, o objetivo do estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana e influência organoléptica de micropartículas de alginato contendo eugenol em queijo de coalho.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 QUEIJO DE COALHO ARTESANAL

O queijo de coalho artesanal é obtido originalmente de leite cru integral, este derivado lácteo apresenta características de identidade e qualidade específicas, e está fortemente relacionado com a identidade social e cultural da região em que é produzido. O queijo de coalho é considerado uma iguaria da culinária nordestina, com elevado valor nutricional, atendendo aos mais diversos paladares devido ao seu sabor e consistência característicos (SEBRAE, 2008; PAQUEREAU, MACHADO; CARVALHO, 2016; PERNAMBUCO, 2018).

Em termos de comercialização é um dos derivados lácteos mais produzidos e consumidos na região do Nordeste. A fabricação é realizada principalmente nos estados do Ceará, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Paraíba. É um considerado um produto que tem a capacidade de atender a vários grupos sociais, étnicos e econômicos devido a sua versatilidade de utilização (ALMEIDA et al., 2013).

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da IN nº 30, de 2001, do Ministério da Agricultura, Pecuária Abastecimento (MAPA) o queijo de coalho é definido como “o queijo que se obtém a partir da coagulação do leite por meio do 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). A instrução normativa nº 30 (BRASIL, 2001) também preconiza o padrão de identidade do queijo de coalho quanto às seguintes características, umidade (média a alta umidade), consistência (semidura, elástica), textura (compacta, macia), massa (cozida ou semi-cozida), cor (branco amarelado uniforme), sabor (brando, ligeiramente ácido, podendo ser salgado), odor (ligeiramente ácido, lembrando massa coagulada), crosta (fina, sem trinca, não sendo usual a formação de casca bem definida), olhaduras (algumas olhaduras pequenas ou sem olhaduras), formato e peso (variáveis) e teor de gordura nos sólidos totais (entre 35 % e 60 %).

O queijo de coalho dependendo da região em que é produzido pode apresentar características diferentes, o que conseqüentemente dificulta a padronização deste derivado lácteo. Tais características são regidas pela matéria-prima e processamento empregado (FONTAN, 2013).

Apesar da portaria nº 146 de 07 de março de 1996, do MAPA, determinar que o leite utilizado para a produção de queijos deve passar por um processo de pasteurização ou outro tratamento térmico (BRASIL, 1996) a maior parte da produção do queijo de coalho (85%) em Pernambuco é realizada com leite cru devido a uma lei estadual que permite a fabricação deste tipo de queijo com leite *in natura*. Esta resolução subdivide o queijo de coalho em duas nomenclaturas: queijo de coalho, para queijos produzidos com leite pasteurizado e queijo de coalho artesanal, para aqueles fabricados com leite cru. É importante ressaltar que esta lei atua apenas dentro dos limites físicos do estado (BRASIL, 2001; PERNAMBUCO, 2018).

O queijo de coalho artesanal frequentemente tem sua imagem associada a um alimento pouco seguro microbiologicamente, isso pode ser explicado pelas características do processo de produção (utilização de leite cru e falta de procedimentos higiênico-sanitários adequados), o que contribui para a contaminação sua contaminação podendo dessa forma, atuar como um meio de transmissão das doenças (DUARTE et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2010; ANDRADE et al., 2011; DA SILVA et al., 2017).

2.2 CONTAMINAÇÃO DE QUEIJO DE COALHO ARTESANAL POR MICRORGANISMOS INDICADORES

A contaminação microbiana dos alimentos no decorrer do processo de produção, transporte, armazenamento e distribuição, além de ser algo indesejável é prejudicial à saúde dos consumidores. Para a identificação de possíveis condições higiênicas precárias que podem implicar na contaminação do alimento, é avaliada a presença de microrganismos indicadores de qualidade insatisfatória e microrganismos patogênicos (SALOTTI et al., 2006).

De acordo com Oliveira et al. (2010) alimentos elaborados por meio de processos artesanais são altamente suscetíveis à contaminação, devido à utilização de matérias-primas provenientes de fontes não seguras, utensílios higienizados de forma incorreta ou contaminados, produção em condições impróprias e armazenamento e comercialização em temperaturas inadequadas, fatores que colaboram para aumentar o risco do desenvolvimento de Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA). Basicamente, para a fabricação de queijos de coalho seguros ao consumidor, faz-se necessária a utilização de boas práticas durante a obtenção da matéria prima e processamento (MIRANDA et al., 2016).

Diversos estudos sobre a qualidade microbiológica de queijo de coalho referiram à ocorrência de microrganismos patogênicos e contagem de microrganismos deterioradores em números que excedem os limites preconizados pela legislação. Dentre as bactérias patogênicas analisadas destacam-se *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes* (CATÃO; CEBALLOS, 2001; CAVALCANTE et al., 2007).

A contaminação do queijo de coalho por *Staphylococcus* enterotoxigênicos coagulase-positiva e negativa representa um importante problema de saúde pública devido ao risco de provocar intoxicação alimentar. A contaminação por *Staphylococcus aureus* tem alta prevalência em produtos lácteos, sobretudo queijos artesanais o que tem sido evidenciado em diversas pesquisas científicas. Na maior parte desses estudos, os queijos são classificados como inadequados para o consumo humano, visto que, são observados níveis de contaminação acima dos permitidos pela legislação em vigor (BORGES et al., 2003; LIMA, 2005; BORGES et al., 2008; SILVA et al., 2010; PEREIRA et al., 2017; BRASIL, 2019).

Salmonella spp. é um gênero de bactérias responsáveis por vários casos de toxinfecções alimentares, sendo comumente encontradas em queijo de coalho mantendo-se viável no produto contaminado por longo período de tempo, o que destaca a relevância do controle de qualidade microbiológica dos laticínios, pois a legislação brasileira determina ausência desta bactéria em alimentos (BRASIL, 2015; BRASIL, 2019).

Em queijos de coalho são comumente identificadas contagens elevadas de microrganismos do grupo coliformes (como por exemplo, *Escherichia coli*), sendo possível inferir que estes laticínios foram elaborados em condições insatisfatórias de higiene. A presença de coliformes fecais ou termotolerantes em um determinado alimento está associada com a contaminação durante beneficiamento, armazenamento e transporte e pode ser utilizado como indicador de contaminação, com potencial possibilidade de riscos de contaminação por microrganismos patogênicos, que ocasionam infecção e intoxicação alimentar ao consumidor (DUARTE et al., 2005; SANTANA et al., 2008; ALVES et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2013).

A ocorrência de *Listeria monocytogenes* tem sido verificada de forma considerável em produtos lácteos. A entrada deste microrganismo acontece por diferentes vias, começando pela qualidade do leite. Sua presença na matéria-prima pode ocorrer por causa da eliminação de cepas por animais portadores, assintomáticos ou sintomáticos e/ou pela contaminação cruzada no momento da ordenha realizada forma inadequada, quando

se utiliza leite cru no beneficiamento e também devido a não conformidades no processo de pasteurização (IVANEK et al., 2006; RUDOLF; SCHERER, 2001; BORGES et al., 2009; DA SILVA et al., 2011; PARISI et al., 2013; BARANCELLI et al., 2014; VALANI, BIANCHI, 2017).

2.3 ALTERNATIVAS NATURAIS PARA ALCANÇAR A ESTABILIDADE MICROBIANA DOS ALIMENTOS

As especiarias e seus óleos desempenham uma importante função conservante em alimentos. Esta função está relacionada com a presença de constituintes antibacterianos na sua composição. O interesse cada vez mais crescente quanto à utilização dos óleos de especiarias como antibacterianos se deve principalmente aos possíveis prejuízos a saúde que os aditivos químicos sintéticos podem causar, o que consequentemente gera uma maior propensão ao uso de compostos naturais de plantas (TAJKARIMI; IBRAHIM; CLIVER, 2010; HASSOUN; ÇOBAN, 2017).

Com base em suas propriedades, antibacteriana e antifúngica, os Óleos Essenciais (OEs) de especiarias têm sido amplamente utilizados pela indústria de alimentos como flavorizantes, aditivos e conservantes (BURT, 2004; BAKKALI et al., 2008).

Quanto aos OEs que possuem comprovada ação antimicrobiana e antioxidante, encontra-se entre os destaques o Óleo Essencial (OE) do cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*, L.). As propriedades tanto antimicrobianas quanto antioxidantes desse óleo se devem principalmente à presença do fitoconstituente eugenol, que age como bactericida (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; CHAIEB et al., 2007). Este OE apresenta ação frente a bactérias de importância em alimentos tais como: *S. aureus*, *E.coli* e *L. monocytogenes* (RADÜNZ, 2017).

2.4 ÓLEO ESSENCIAL (OE) E FITOQUÍMICOS: CRAVO-DA-ÍNDIA E EUGENOL

O Óleo Essencial (OE) pode ser definido como “misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com propriedades odoríferas, sabor ácido e consistência oleosa” (SIMÕES et al., 2007). Comumente, o OE quando extraído é incolor ou levemente amarelado, não apresentando estabilidade, principalmente na presença de ar, calor, luz, umidade e metais. São oriundos do metabolismo secundário de plantas

aromáticas, podendo ser obtidos de folhas, flores e frutos, sendo empregados em alimentos e/ou medicamentos (SILVA SANTOS et al., 2006). Levando em consideração a sua constituição química, o OE é formado por derivados fenilpropanoides ou de terpenoides, prevalecendo esses últimos. Geralmente possuem de 20 a 60 fitoconstituintes em mistura, onde um, dois ou três deles são considerados majoritários em termos de percentual (BAKKALI et al., 2008).

O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), pertencente à família Myrtaceae é uma planta arbórea nativa da Indonésia, sendo disseminada pelos britânicos durante a colonização. Em português o nome cravo, é derivado da palavra grega clavus, que significa “prego” por causa de sua aparência física. O nome científico atual do cravo-da-índia é *Syzygium aromaticum*, contudo, também possui alguns sinônimos botânicos, tais como: *Eugenia caryophyllus* Sprengel, *Caryophyllus aromaticus* L, *Eugenia caryophyllata* Tumb e *Eugenia aromatica* (L) Baill (SILVESTRI et al., 2010; AFFONSO et al., 2012).

O OE de cravo-da-índia é classificado como um composto aromático fenólico e de acordo com a FDA (Food and Drug Administration) é certificado como GRAS (Generally Regarded As Safe) quando o conteúdo não ultrapassa os 1500 ppm em todas as categorias de alimentos (ANDERSON; MCKINLEY; COLAVECCHIA, 1997; GÜLÇİN; ELMASTAŞ; ABOUL-ENEIN, 2012; EL ASBAHANI et al., 2015).

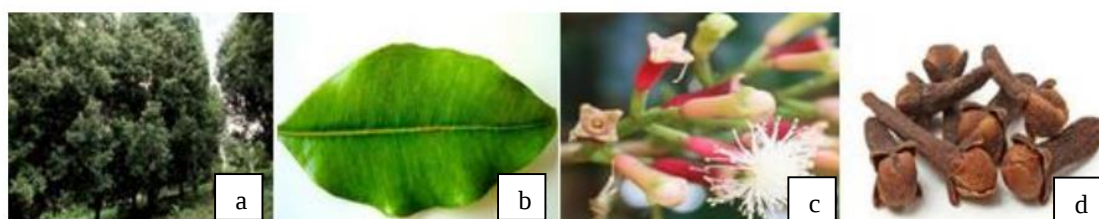
No âmbito popular diversos nomes são comumente empregados, dentre os quais se destacam: cravo-da-índia, cravinho, craveiro da índia, cravo-gírofle, cravo de cabecinha, cravoária, cravina de tûnis e rosa da índia (CAVALCANTE, 2013).

De acordo com Mazzafera (2003) os maiores produtores de cravo no mundo situam-se nos continentes africano (Madagascar e Zanzibar) e asiático (Indonésia). No Brasil, o cultivo dá-se em maior parte nas regiões sul da Bahia (nos municípios de Valença, Ituberá e Taperoá) e no norte do interior do estado de São Paulo (COSTA et al., 2011; CAVALCANTE, 2013). O cravo é considerado uma especiaria amplamente utilizada, desde a antiguidade devido ao odor fortemente aromático, sabor ardente e característico, qualidade culinária e propriedades terapêuticas (RABÊLO, 2010; SILVESTRI et al., 2010; AFFONSO et al., 2012).

Sua árvore é considerada de grande porte, possui copa alongada piramidal característica e pode atingir em média 12-15 metros de altura. Em relação à durabilidade do ciclo vegetativo pode apresentar durabilidade maior que cem anos. As folhas possuem similaridade com as de louro com coloração verde brilhante e quando são expostas à luz

pode-se observar glândulas oleosas. As flores são de tamanho pequeno arranjadas em corimbos terminais de cor verde-amarelado. Os frutos carnosos são comestíveis, do tipo drupa elipsoide e avermelhados (Figura 1). O produto comumente extraído do cravo-da-índia que é utilizado tanto nas preparações culinárias quanto em atividades biológicas é o OE dos botões florais secos de *S. aromaticum* (RABÊLO 2010).

Figura 1 – Fotos ilustrativas da árvore (a), folha (b), cravo-da-índia em flor (c) e cravo-da-índia seco (d)

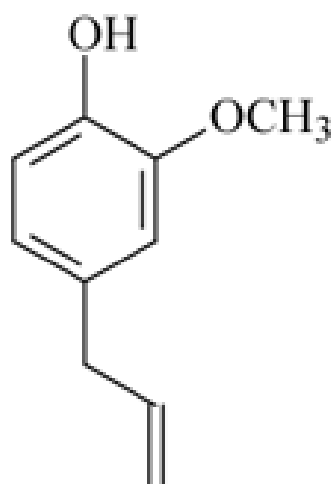


Fonte: Radünz (2017).

O componente majoritário do OE de *S. aromaticum* é o eugenol que representa cerca de 70 a 90%; além disso, também apresenta em sua constituição β -cariofileno, α -humuleno, acetato de eugenila e óxido de cariofileno. Várias propriedades biológicas da espécie como, antimicrobiana e antioxidante são atribuídas à presença do eugenol (OLIVEIRA et al., 2009; RADÜNZ et al., 2019; HOSSEINI et al., 2019; SHARMA et al., 2022).

O eugenol é um fitoconstituente altamente volátil conhecido comumente como essência de cravo, pois é o principal composto responsável pelo aroma característico do OE de cravo-da-índia. Conforme a IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) a nomenclatura para o eugenol é 4-Alil-2-Metoxifenol e sua fórmula molecular, $C_{10}H_{12}O_2$ (Figura 2). Quanto às características físicas é um líquido incolor ou amarelado, de odor característico e altamente volátil. Apresenta densidade de 1,067 g/mL, ponto de fusão de $-9,2^{\circ}\text{C}$ e ponto de ebulição a 253°C . É pouco solúvel em água (2,46g/L em 25°C), e apresenta total solubilidade em óleos e solventes orgânicos como, éter, gordura, álcool etílico e clorofórmio (ESCOBAR, 2002; MAZZAFERA, 2003; RABÊLO, 2010; IRKIN; ESMER, 2015; RESENDE et al., 2017).

Figura 2 – Estrutura química do eugenol



Fonte: Moraes et al. (2009).

É considerado um fitoconstituente versátil, com aplicações na indústria farmacêutica, de cosméticos e alimentícia. No setor alimentício, o eugenol é utilizado como flavorizante e antioxidante em sorvetes, produtos de panificação e doces (PRIEFERT et al., 2001; CHANG et al., 2002; BARCELOUX, 2008; CHATTERJEE; BHATTACHARJEE, 2015).

2.4.1 Utilização do eugenol na conservação dos alimentos

Tem sido um desafio para a indústria alimentícia atender as exigências legais para garantir a segurança alimentar, assim como satisfazer as expectativas associadas às exigências dos consumidores que tem apresentando um elevado grau de informação sobre a importância da seleção adequada de alimentos para a manutenção da saúde. Esse cenário tem estimulado iniciativas na comunidade científica da área de ciência e tecnologia de alimentos juntamente às indústrias do setor em refletir sobre o melhor caminho para a conservação de alimentos (MACHADO; BORGES; BRUNO, 2011).

Em vista disso, novos compostos têm sido estudados na possibilidade de auxiliarem de forma coerente na substituição dos conservantes sintéticos (comumente aplicados para assegurar a estabilidade microbiológica e física dos produtos), e que sejam viáveis para a inclusão em um sistema de conservação de alimentos. Neste cenário, óleos essenciais e fitoconstituintes de plantas condimentares já utilizados como flavorizantes e

com alto potencial antimicrobiano recebem uma nova perspectiva de uso (SOUZA; LIMA; NARAIN, 2003; HONORATO et al., 2013).

O estudo de produtos naturais com potencial aplicação em alimentos tem cada vez mais causado o interesse das indústrias, uma vez que, esse setor tem a necessidade de fabricar alimentos com propriedades sensoriais preservadas, menor teor de aditivos sintéticos e vida de prateleira mais extensa (SOUZA; LIMA; NARAIN, 2003; STEURER, 2008).

Dentre os agentes antimicrobianos que tem despertado o interesse para aplicação em matriz alimentar, o eugenol recebe notoriedade devido a suas ações antioxidante, antibacteriana e antifúngica, propriedades biológicas que podem garantir a segurança e aumentar a vida útil de prateleira do alimento (BARCELOUX, 2008; AHMAD et al., 2010; DEVI et al., 2010; DEHKORDI et al., 2019; ANUPAMA; NETRAVATHI; AVINASH, 2019).

2.4.2 Atividade antioxidante do eugenol

A estrutura química de compostos fenólicos, como o eugenol, é determinante para o desempenho de sua atividade antioxidante (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). A atividade antioxidante do eugenol inclui a inibição da produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) Espécies Reativas de Nitrogênio (ERN) e a eliminação de radicais livres (ADEFEGHA; OKEKE; OBOH 2020; ALFIKRI et al., 2020).

Fujisawa et al. (2002) e Gulçin (2011) afirmaram que tratando-se de um fenol, o eugenol (metóxi-fenólica) desempenha importante atividade antioxidante. A ação antioxidante ocorre por que este fitoquímico é capaz de doar o átomo de hidrogênio fenólico, resultando consequentemente na estabilidade do radical peroxila (ROO $\cdot$).

Scherer e Godoy (2009) verificaram que o eugenol apresenta Índice de Atividade Antioxidante (IAA) entre 10 e 11 (a atividade antioxidante é considerada baixa quando o IAA é menor que 0,5; moderada quando o IAA estiver entre 0,5 e 1,0; forte quando o IAA estiver entre 1,0 e 2,0 e muito forte quando o IAA for maior que 2,0).

Na avaliação de atividade antioxidante do eugenol, Silvestri e colaboradores (2010) verificaram que quanto maior a concentração de eugenol maior será sua atividade antioxidante atingindo valor máximo de 95,6% para a concentração de 1000 $\mu\text{g/mL}$. Outro estudo evidenciou que o eugenol tem a capacidade de inibir as ERO cinco vezes

mais que o α -tocoferol. Por isso, o eugenol é considerado um promissor antioxidante de origem natural (NAGABABU et al., 2010).

2.4.3 Atividade antibacteriana do eugenol

De acordo com Ramos et al. (2007) os compostos com atividade antimicrobiana são substâncias com capacidade de eliminar ou impedir o desenvolvimento de microrganismos. As plantas são formadas por constituintes que as protegem de microrganismos patogênicos.

Dentre as propriedades do fitoconstituente eugenol, destaca-se sua potencial ação antimicrobiana, viabilizando sua utilização para substituição de compostos sintéticos empregados na conservação de alimentos (SILVESTRI et al., 2010; SCOPEL et al., 2014). A atividade antimicrobiana do eugenol tem sido associada à sua estrutura fenólica que provoca a degradação das proteínas das membranas celulares das bactérias alterando a permeabilidade e inibindo a proliferação destes microrganismos (WALSH et al., 2003; CHAIEB et al., 2007).

O mecanismo de ação antimicrobiana do eugenol baseia-se na modificação da parede celular das bactérias, resultando no aumento da permeabilidade celular. Desta forma, a hiperpermeabilidade promove o extravasamento de íons e a perda significativa de compostos intracelulares. Além disso, o eugenol pode penetrar no citoplasma celular e inibir a produção de DNA, proteínas, e enzimas como amilases e proteases pela célula. Estes resultados indicam que a influência do eugenol na inibição do crescimento bacteriano pode causar não apenas dano físico, mas também, dano molecular (PEREIRA et al., 2008; DEVI et al., 2010).

Gill e Holley (2006) verificaram que o eugenol foi eficaz na inibição de ATPases ligadas às membranas de *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*, enzimas que participam da produção de ATP e regulação do pH celular. Além disso, evidenciou-se que embora a inibição de ATPases provoque a diminuição da velocidade de crescimentos desses microrganismos o principal mecanismo de ação do eugenol foi sob a ruptura da membrana citoplasmática.

Hemaiswarya e Doble (2009) atribuíram danos a nível de membrana celular em *S. aureus* e *E. coli* como presumível mecanismo de ação do eugenol e ainda afirmaram que os danos na membrana celular bacteriana de ambos os microrganismos elevaram a permeabilidade não seletiva da membrana. Esse mecanismo de ação do eugenol na

membrana citoplasmática também foi evidenciado por outros estudos como o principal mecanismo de ação antibacteriana do fitoquímico contra *Proteus vulgaris*, *L. monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *E. coli* (OYEDEMI et al., 2009) e *Salmonella Typhi* (DEVI et al., 2010).

Machado et al. (2015) ao avaliarem *in vitro* a atividade do eugenol frente a bactérias patogênicas de ocorrência em queijo de coalho verificaram que apresentou CIM de 600 µg/mL e CBM de 1200 µg/mL e CIM e CBM de 600 µg/mL sob a viabilidade celular de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Escherichia coli* (ATCC 8739) respectivamente.

2.5 DESAFIOS ENFRENTADOS ACERCA DA UTILIZAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS E FITOCONSTITUINTES NA INDÚSTRIA ALIMENTÍCIA

Fornecer alimentos seguros, nutritivos e de interesse para o consumidor é o principal desafio do setor de alimentos. O elevado grau de informação da população sobre a importância da seleção adequada de alimentos para a manutenção da saúde tem contribuído para que o mercado consumidor opte por produtos que sejam definidos como *clean label*, ou seja, alimentos produzidos com ingredientes naturais. Diante disso, as empresas têm investido em alternativas que garantam a qualidade e atendam as exigências dos consumidores por alimentos mais saudáveis e sem aditivos químicos sintéticos (NACHAY, 2017; GAVAHIAN et al., 2020).

Os Óleos Essenciais (OE) têm sido considerados uma alternativa promissora no mercado atual, pois dispõem de características físico-químicas que fortalecem a implementação na produção de alimentos. Além disso, vários estudos com OEs tem evidenciado uma potencial atividade antioxidante e antimicrobiana, que são propriedades de interesse para a conservação dos alimentos (STASHENKO, MARTINEZ, 2018).

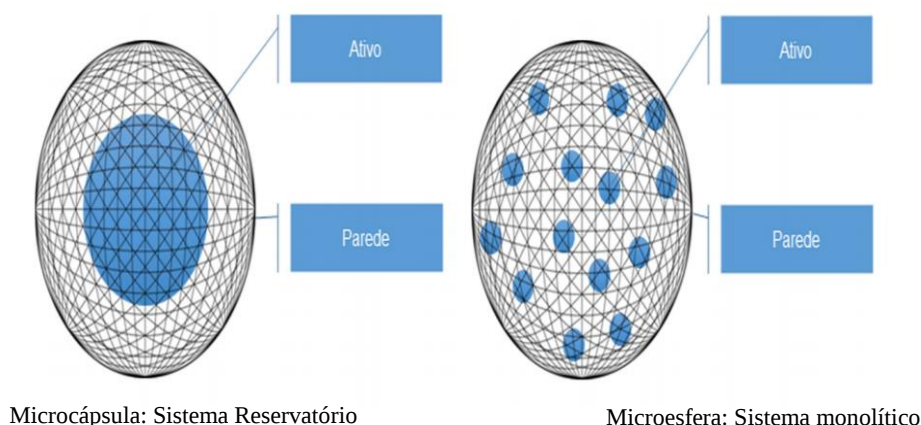
A utilização dos Óleos Essenciais (OEs) nos alimentos deve-se principalmente as suas propriedades, antioxidante e antimicrobiana, entretanto, os OEs e seus constituintes majoritários possuem odor característico e elevada volatilidade o que pode limitar sua utilização em matrizes alimentares. Diante disso, diferentes estratégias que tornem a ação antimicrobiana eficiente sem afetar os atributos sensoriais dos alimentos vêm sendo propostas, dentre estas, a encapsulação de bioativos que além de controlar o odor, evita a degradação dos componentes voláteis (TAJKARIMI; IBRAHIM; CLIVER, 2010; HOLKEM et al., 2015; RADÜNZ, 2017; DELSHADI et al., 2020).

A microencapsulação é uma tecnologia relativamente nova, onde as substâncias ativas são revestidas por cápsulas muito pequenas, e vem sendo empregada na indústria alimentícia para manter a integridade e função dos óleos, aromas, ácidos, vitaminas, entre outros (SILVA et al., 2014). A utilização da microencapsulação na área de alimentos tem várias finalidades tais como: proteger as substâncias encapsuladas dos agentes atmosféricos, disfarçar as características sensoriais indesejáveis (sabores, odores e cor) de alguns materiais; otimizar a solubilidade do material encapsulado, aumentar o tempo de armazenamento, tornar mais estável a substância a encapsular e controlar a liberação e diminuição da velocidade de evaporação de substâncias voláteis (KUANG; OLIVEIRA; CREAN, 2010; NEDOVIC et al., 2011; DELSHADI et al., 2020; HOSSEINI; JAFARI, 2020).

2.6 MICROENCAPSULAÇÃO

A encapsulação é definida como um processo em que ocorre a retenção de um composto dentro de outro, denominado agente encapsulante, material de parede ou cobertura (NEDOVIC et al., 2011). A diferença entre encapsulação, microencapsulação e nanoencapsulação está basicamente no tamanho da cápsula. De acordo com Rebello (2009) as cápsulas podem ser classificadas conforme o diâmetro em três categorias: macrocápsulas ($>5000\mu\text{m}$), microcápsulas ($0,2-5000\mu\text{m}$) e nanocápsulas ($<0,2\mu\text{m}$).

Quanto à morfologia, as micropartículas são classificadas de acordo com a sua estrutura (Figura 3), podendo ser microcápsula (que compreende um sistema do tipo reservatório), na qual o núcleo é concentrado na região central, envolto por um filme definido e contínuo do material de parede; ou microesfera (que é um sistema monolítico), quando o núcleo é disperso de maneira uniforme por toda a matriz polimérica. Nesta categoria a substância ativa pode estar dispersa no material encapsulante ou ser encontrada na sua superfície. A diferença mais característica entre a microcápsula e a microesfera, é que na microcápsula o material ativo está protegido pelo encapsulante enquanto que, na microesfera o material ativo está distribuído no encapsulante ou pode ser localizado na sua superfície (AZEREDO, 2005; NESTERENKO et al., 2013; RAY; RAYCHAUDHURI; CHAKRABORTY, 2016).

Figura 3 – Morfologia das micropartículas: microcápsula e microesfera

Fonte: Pereira et al. (2018).

Basicamente, a microcápsula consiste em uma camada de um agente encapsulante, que de modo geral corresponde a um material polimérico o qual funciona como um filme protetor isolando o agente encapsulado (substância ativa, podendo ser de natureza sólida, líquida ou gasosa), que também pode ser chamado de material de recheio, núcleo ou fase interna. Essa membrana é desfeita sob estímulo específico, liberando seu conteúdo sob condições específicas e/ou controladas (GHARSALLAOUI et al., 2007). Os agentes encapsulantes (Tabela 1) responsáveis pelo revestimento de substâncias ativas podem ser diversas origens: natural, semissintética ou sintética (ANSON, 2005).

Tabela 1 – Exemplos de agentes encapsulantes

Agente encapsulante	Exemplos
Natural	Alginato de sódio, quitosana, alginato de cálcio, gelatina, goma arábica, ágar, dextrano, caseinato, sacarose e cera.
Semissintético	Hidroxipropilcelulose, metil celulose, carboximetilcelulose de sódio, álcool mirístico, monoglicerol, diacilglicerol ou dipalmitato, monoestearato, diestearato e triestearato de glicerol, acetato de celulose, nitrato de celulose, etilcelulose.
Sintético	Polímeros do ácido acrílico e copolímeros.

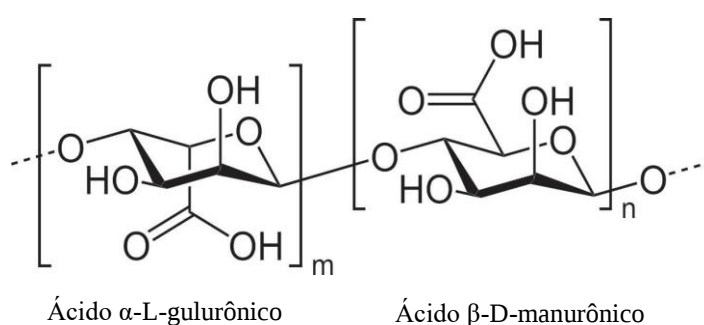
Fonte: Adaptado de Anson (2005).

2.6.1 Material de parede – Alginato

Dentre os agentes encapsulantes, o alginato ou ácido algínico (Figura 3) tem se destacado. O alginato trata-se de um copolímero linear, formado de ácidos α -L-

gulurônico e β -D-manurônico com ligações 1-4 (Figura 4), sintetizado de algas (parede celular) marrons geralmente na forma de um sal misto de cálcio, magnésio, sódio e potássio localizadas em regiões costeiras do mar. Em comparação com outros polímeros, a utilização de alginato é mais favorável, pois o mesmo apresenta facilidade quanto a sua obtenção, tem relativamente um baixo custo, é biodegradável, biocompatível, hidrossolúvel e não requer condições rígidas de temperatura para a formação das partículas (SCHOUBBEN et al., 2010; MÜLLER; SANTOS; BRIGIDO, 2011; FUJIWARA et al., 2013; ZIA et al., 2015).

Figura 4 – Estrutura química do alginato ou ácido algínico



Fonte: Liang et al. (2015).

Contudo, para otimizar a eficiência de encapsulação do alginato de sódio são empregados emulsificantes, que possibilitam a interação entre água e óleo devido a presença de grupos polares e apolares na sua constituição. Os exemplos mais comuns de emulsificantes na indústria de alimentos são o Tween 20 e o Tween 80, emulsificantes não aniônicos pertencentes à classe dos polissorbatos (RADÜNZ, 2017). A microencapsulação com a utilização de alginato, cloreto de sódio e emulsificantes tem sido comumente realizada através da técnica de gelificação iônica (KERWIN, 2008; NATRAJAN et al., 2015).

2.6.2 Gelificação iônica

A gelificação iônica é um método geralmente empregado para a microencapsulação de compostos sensíveis, devido a sua simplicidade e versatilidade. É uma técnica físico-química baseada em interações iônicas de compostos de cargas opostas. A produção de microesferas sem a necessidade de utilizar solventes orgânicos

torna o método com potencial crescente e promissor, principalmente para microencapsulação de compostos ativos termossensíveis de interesse da indústria alimentícia (PATIL et al., 2010; BENAVIDES et al., 2016).

O processo de gelificação iônica consiste no gotejamento ou aspersão de uma solução de polissacarídeo aniônico sobre uma solução catiônica, em concentrações apropriadas (AGUILAR et al., 2015). Há dois tipos de gelificação iônica: a interna e a externa. A produção de partículas através da adição de sais de cálcio insolúveis sob uma solução polimérica a qual contém material de núcleo, com posterior dispersão desta mistura em uma fase oleosa contendo surfactante, caracteriza a gelificação iônica interna. Para que haja a gelificação, é empregada uma solução ácida para a diminuição do pH, para que sejam liberados os íons cálcio, viabilizando consequentemente a sua complexação com os grupos carboxílicos do alginato.

A gelificação iônica externa é um método baseado na produção de partículas por gotejamento de uma solução polimérica, comumente carregada negativamente, em uma solução catiônica, geralmente contendo cálcio, onde a gelificação acontece por meio da difusão de cátions para o interior da solução de hidrocoloide (SCHOUBBEN et al., 2010). A interação de gotas de uma solução de alginato de sódio na presença dos íons de cálcio, por exemplo, leva à rápida formação de estruturas de hidrogéis insolúveis em água (ROCHA, 2017).

A gelificação iônica é uma técnica de encapsulação muito vantajosa, pois não requer o uso de temperaturas controladas e nem agitação vigorosa, além disso, não é necessária a utilização de solventes orgânicos o que torna esta técnica promissora, principalmente para a encapsulação de compostos de interesse em alimentos. A encapsulação por gelificação iônica também tem se mostrado uma técnica eficaz para a obtenção de produtos palatáveis e nutritivos, disfarçando sabores indesejáveis e preservando nutrientes. Esta técnica também tem a capacidade de melhorar a estabilidade do composto encapsulado (RADÜNZ, 2017; DE MOURA et al., 2019; KARIMIRAD; BEHNAMIAN; DEZHSETAN, 2020).

Estudos sobre a conservação dos alimentos utilizando eugenol podem contribuir para o fornecimento de um produto seguro, e a técnica de encapsulamento, permite tanto potencializar as suas propriedades funcionais quanto evitar com que este fitoconstituente modifique as características de qualidade de produtos alimentícios, atendendo dessa forma as atuais preferências do mercado consumidor por alimentos mais naturais e saudáveis.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar a atividade antimicrobiana e influência organoléptica em queijo de coalho de micropartículas de alginato contendo eugenol.

3.2 Específicos

- Definir as condições de processamento de encapsulamento;
- Determinar a atividade antimicrobiana *in vitro* do eugenol frente à cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538;
- Encapsular o eugenol utilizando alginato de sódio e emulsificante;
- Caracterizar as micropartículas de alginato contendo eugenol quanto a eficiência de encapsulação, tamanho de partícula, índice de polidispersão, potencial zeta, microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura;
- Determinar a atividade antimicrobiana *in vitro* das partículas de alginato contendo eugenol;
- Avaliar a cinética de inibição bacteriana das partículas de alginato contendo eugenol em queijo de coalho experimental;
- Avaliar o atendimento do queijo de coalho experimental quanto ao padrão regulamentar;
- Avaliar as características sensoriais do queijo de coalho experimental com partículas de alginato contendo eugenol.

4 ARTIGO 1

Artigo a ser submetido na revista: Food Chemistry

(ISSN: 0308-8146)

Micropartículas de alginato adicionadas de eugenol: atividade antimicrobiana e influência organoléptica em queijo de coalho

Dayane de Melo Barros, Danielle Feijó de Moura, Erilane de Castro Lima Machado,
Ranilson de Souza Bezerra

RESUMO

O eugenol é amplamente conhecido por seu potencial antimicrobiano e antioxidante. Considerando que a indústria de alimentos vem buscando cada vez mais por opções naturais e saudáveis a fim de atender as demandas do mercado consumidor, o eugenol apresenta-se como uma alternativa aos aditivos sintéticos para a conservação dos alimentos. Sendo assim, o objetivo do presente estudo avaliar a atividade antimicrobiana e influência organoléptica de micropartículas de alginato adicionadas de eugenol em queijo de coalho. A avaliação da Eficiência de Encapsulação (EE) foi realizada mediante a quantificação de compostos fenólicos. Para a caracterização das micropartículas, foram realizados, Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS), Microscopia Óptica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). A atividade antimicrobiana *in vitro* do eugenol na sua forma livre e encapsulada foi determinada através da técnica de microdiluição frente à cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e a cinética de crescimento bacteriano foi avaliada *in situ* (queijo de coalho adicionado de micropartículas). A análise sensorial foi realizada conforme a metodologia do Perfil Descritivo Quantitativo (PDQ). As micropartículas apresentaram um elevado valor de EE (87,3%). O tamanho obtido foi de $1,21 \pm 0,07 \mu\text{m}$, favorável à aplicação em alimentos, e seu índice de polidispersão (0,15) demonstra a uniformidade deste tamanho. O potencial zeta foi de -5,86, esta eletronegatividade está relacionada com a estrutura química da matriz polimérica. As micropartículas quando úmidas, apresentaram formato esférico e uniforme através de Microscopia Óptica (MO). No entanto, quando avaliadas após secagem por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foi observada morfologia irregular. Quanto à atividade antimicrobiana, as micropartículas foram eficientes *in vitro* e *in situ*. Sobre os atributos sensoriais, as amostras de queijo de coalho com micropartículas foram consideradas similares às amostras de queijo de coalho padrão exceto para o atributo textura (compacidade). Com base nos dados obtidos, as micropartículas de eugenol podem ser uma alternativa natural favorável para a conservação de alimentos.

Palavras-chave: eugenol; conservação de alimentos; eficiência de encapsulação. Atividade antimicrobiana; *Staphylococcus aureus*.

1. INTRODUÇÃO

O crescente interesse em abordagens alternativas de conservação, para inibir o crescimento de microrganismos contaminantes em alimentos está diretamente relacionado em garantir a segurança alimentar e atender as demandas dos consumidores por alimentos mais naturais e saudáveis. A utilização de conservantes naturais tem sido considerada uma opção mais favorável a outros sistemas de preservação alimentar, como os aditivos químicos sintéticos, que podem ser prejudiciais tanto a saúde quanto ao meio ambiente. Os conservantes naturais vêm atuando de forma eficiente na inibição de microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes em alimentos, podendo ser de origem, vegetal, animal ou microbiana (PROKOPOV; TANCHEV, 2007; TIWARI et al., 2009; BREWER, 2011; GYAWALI; IBRAHIM, 2014; IRKIN; ESMER, 2015; DOMÍNGUEZ et al., 2018).

Conservantes naturais de origem vegetal como os Óleos (OEs) essenciais e seus compostos bioativos têm importante capacidade antioxidante e atividade contra patógenos alimentares, além disso, são geralmente classificados como seguros, podendo ser utilizados como aditivos naturais em alimentos na substituição aos aditivos sintéticos. Dentre os componentes bioativos, o eugenol tem desenvolvido significativa atividade antioxidante e também antimicrobiana frente a vários microrganismos causadores de Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA) como, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium* (NANASOMBAT; WIMUTTIGOSOL; 2011; RONG et al., 2013; IRKIN; ESMER, 2015; PERRICONE et al., 2015; RESENDE et al., 2017; PRAKASH et al., 2018; ALFIKRI et al., 2020)

Entretanto, mesmo com seu importante potencial antioxidante e antimicrobiano o eugenol, apresenta aspectos intrínsecos (baixa solubilidade em água, elevada volatilidade, estabilidade química reduzida e aroma característico) que limitam o seu uso como conservante. Na indústria de alimentos, o encapsulamento é uma tecnologia aplicada para melhorar as propriedades de várias moléculas bioativas, aumentando sua solubilidade e protegendo de fatores externos (como umidade, temperatura e interação com outros materiais) de forma a prolongar sua estabilidade. Esta técnica também pode evitar que compostos aromáticos interfiram nas características de qualidade do alimento,

demonstrando ser uma forma promissora para a utilização do eugenol como aditivo alimentar natural (NEDOVIC et al., 2011; GAONKAR et al., 2014; KUJUR et al., 2017; DELSHADI et al., 2020). Diante dessa perspectiva, o objetivo do estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana e influência organoléptica de micropartículas de alginato contendo eugenol em queijo de coalho.

2. Materiais e métodos

2.1 Definição das condições e processamento do sistema de encapsulamento

Para alcançar condições adequadas de processamento das micropartículas de alginato contendo eugenol através da técnica de gelificação iônica externa, foram realizados ensaios experimentais prévios. Os fatores avaliados quanto às micropartículas obtidas foram: formação, aspectos visuais e percepção de odores. O eugenol e o alginato de sódio foram avaliados nas concentrações de 1 e 2% e 2,0 e 2,5% respectivamente. A solução de cloreto de cálcio foi testada nas concentrações: 3 % e 5%.

Para a homogeneização do alginato com o eugenol, avaliou-se a utilização de vórtex e Ultra-Turrax a 13.500 rpm por 5 min e 10 min. Os emulsificantes Tween 20 e Tween 80 foram avaliados para a formulação nas concentrações 1 e 2% e também foi avaliado o uso do banho de gelo durante o preparo da emulsão. Quanto ao equipamento foram ajustas diferentes condições do encapsulador BUCHI 395-PRO: frequência de 1000 Hz para 1500 Hz, voltagem de 500 V para 1500 V, do fluxo de 13 mL/min e 20 mL/min para 10 mL/min e bico de aspersão de 100 µm para 120 µm.

2.2 Preparação das micropartículas de alginato contendo eugenol

A emulsão formada por alginato de sódio (Sigma-Aldrich®) a 2%, tween 80 (VETEC®) a 2% e eugenol (Sigma-Aldrich®) de médio peso molecular (massa molar = 164,2 g/mol) a 1% (0,106 g/mL) foi homogeneizada em banho de gelo em Ultra-Turrax (IKA T25) a 13.500 rpm e em seguida foi depositada em uma seringa (10 mL) e em seguida pulverizada no encapsulador (BUCHI 395-PRO), sob frequência de 1500 Hz, voltagem de 1500 V e fluxo de 10 mL/min, utilizando bico de aspersão de 120 µm em um béquer contendo uma solução de 250 mL de cloreto de cálcio (Dihidratado – Dinâmica) a 3% sob agitação constante a temperatura ambiente. As partículas foram

lavadas com água destilada, filtradas e secas por liofilização. Posteriormente, as partículas foram armazenadas em frasco de vidro em congelador (-4°C) até a utilização. Amostras controle foram produzidas da mesma forma, contudo sem a presença do fitoconstituente.

2.3 Caracterização das micropartículas de eugenol

2.3.1 Eficiência de Encapsulação (EE)

A avaliação da Eficiência de Encapsulação (EE) ocorreu através da quantificação dos compostos fenólicos presentes na superfície e no interior das micropartículas de acordo com o método de Folin-Ciocalteu (SWAIN; HILLS, 1959).

2.3.2 Microscopia Óptica (MO)

A caracterização através da Microscopia Óptica (MO) foi realizada com as partículas em dispersão, distribuídas em lâmina coberta por lamínula. As micrografias ópticas foram realizadas em um microscópio óptico (OPTON – TIM 2008) acoplado em um sistema de aquisição de imagens digitais.

2.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a avaliação morfológica mediante Microscopia Eletrônica de Varredura utilizou-se o microscópio da marca Tescan, modelo LMU - Vega 3 com voltagem de 30kV. As micropartículas foram desidratadas em dessecador por 24 h. Em seguida, as amostras foram dispostas em stubs sobre fita de carbono e metalizadas a vácuo (Denton Vacuum, Disk V, EUA).

2.3.4 Tamanho de micropartícula, índice de polidispersão e potencial zeta

A avaliação do tamanho, índice de polidispersão (expressos como tamanho médio) e potencial zeta das micropartículas de alginato contendo eugenol foi realizada mediante a técnica de Espalhamento Dinâmico de Luz (DLS) utilizando o equipamento Nano Brook Zeta Plus Zeta Potential Analyzer (Brookhaven, EUA). Para cada medição, 10 µL das amostras foram diluídos (v/v) em 2 mL de água destilada em pH neutro (~ 7,0).

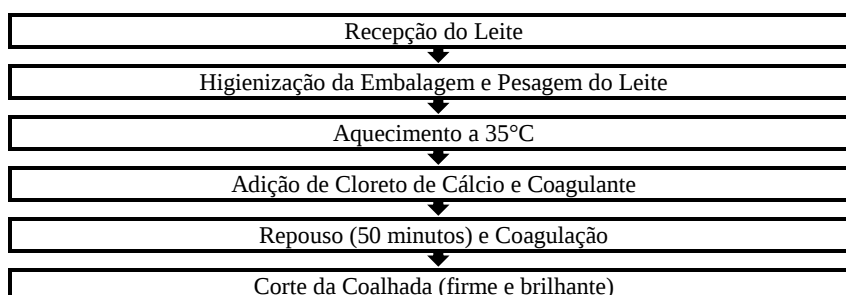
O experimento foi realizado em quadruplicata.

2.4 Determinações da atividade antimicrobiana *in vitro* do eugenol e da micropartícula frente à cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)

A atividade antimicrobiana *in vitro* do eugenol e das micropartículas de alginato com e sem eugenol frente à cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 através da determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) pela técnica de microdiluição (CLSI, 2019). A CBM foi determinada a partir da transferência de uma alçada de cada poço teste para placas de Petri contendo o meio Ágar Mueller-Hinton e, então foi incubada a 35 ± 2 °C em estufa por 24 h. A CBM foi considerada como a menor concentração em que não se observou o crescimento bacteriano. Foram realizados três experimentos independentes em triplicata.

2.5 Preparação de queijo de coalho com micropartículas de eugenol

O queijo de coalho experimental foi produzido (Figura 1) conforme a técnica descrita por Nassu, Macedo e Lima (2006) com algumas modificações. Os ingredientes utilizados foram leite bovino integral pasteurizado, padronizado com 3% de gordura, coagulante líquido HA-LA®, cloreto de cálcio (VETEC®) e cloreto de sódio. Foram elaborados queijos de coalho com e sem micropartículas de alginato contendo eugenol. Nas amostras das micropartículas de alginato contendo eugenol adicionou-se 1,034g de partículas a cada 100g de massa de queijo, de forma alcançar a concentração de 0,09 mg/g de eugenol no produto final. A quantidade de micropartículas adicionada foi definida com base no resultado obtido na CIM x 10. Todas as amostras foram assepticamente transferidas a sacos estéreis para coleta de amostra sólida e armazenadas em condições de refrigeração a 10° C.



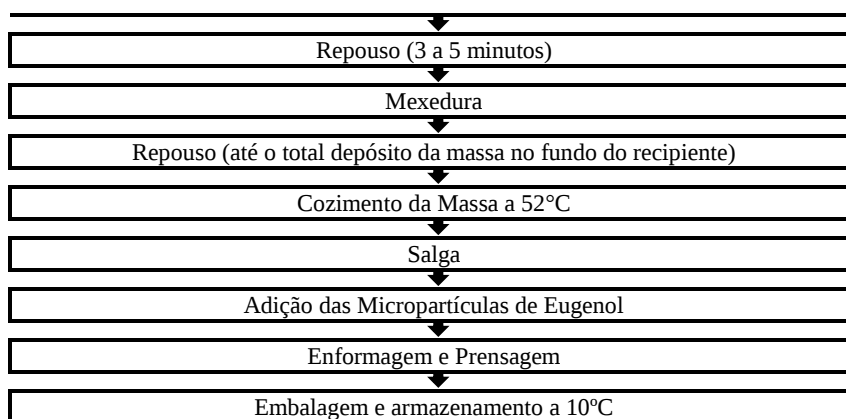


Figura 1 – Fluxograma do processo de produção do queijo de coalho

2.6 Caracterização físico-química do queijo de coalho

As amostras de queijo de coalho padrão foi avaliada em relação a parâmetros físico-químicos exigidos pela legislação vigente (BRASIL, 2001). O percentual de umidade foi determinado por gravimetria em estufa a 105°C até peso constante das amostras e para a quantificação do teor de gordura utilizou-se um butirômetro para leite. Os resultados do teor de gorduras foram expressos como Gordura em Base Seca (GBS) e foram calculados de acordo com a seguinte equação: $GBS = \% \text{ gordura} \times 100 / \text{extrato seco total}$ (INSTITUTO ADOLF LUTZ, 2008).

2.7 Análises microbiológicas

As análises de qualidade microbiológica foram com o queijo de coalho com e sem micropartículas de alginato contendo eugenol. As amostras foram analisadas quanto aos padrões microbiológicos de queijos, de acordo com a legislação, RDC nº 12 (BRASIL, 2001) a qual, preconiza a avaliação de *Staphylococcus* coagulase positiva/g, coliformes a 45°C, *Listeria monocytogenes*/25g e *Salmonella* sp/25g, utilizando a metodologia descrita na Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2003).

2.8 Atividade antimicrobiana *in situ* de micropartículas de eugenol sob a viabilidade de *Staphylococcus aureus*

A cinética de atividade antimicrobiana das micropartículas foi avaliada através da utilização de cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 padronizadas de acordo com a turbidez do tubo 0,5 da escala de McFarland. A contagem de células foi confirmada por espectrofotometria sob densidade ótica de 610 nm.

As amostras de queijo de coalho com e sem micropartículas de alginato contendo eugenol foram inoculadas com 2,5 mL da suspensão bacteriana e mantidas sob refrigeração (6 a 8°C) nos intervalos de 0, 16h, 1d, 2d, 5d, 10d, 15d e 30d pós-incubação, as amostras foram diluídas em água peptonada a 1% (25 g de amostra para 225 mL de água peptonada) e posteriormente, foi realizada uma diluição seriada (1:9 v/v) em água destilada (10^{-1} – 10^{-6}) estéril. Aliquotas de 100 µL das diluições foram semeadas em placas de Petri contendo meio ágar Baird-Parker enriquecido com emulsão de gema de ovo e telurito de potássio 3,5%. As alíquotas foram distribuídas uniformemente com alça de Drigalski e as placas foram incubadas a 35 °C por 48 h. Após a contagem do número de células viáveis, os resultados foram expressos como log UFC g⁻¹(SAGDIÇ, 2003).

2.9 Análise Sensorial

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do CAV/UFPE (CAAE 50294521.8.0000.9430) em conformidade com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. A análise sensorial foi realizada de acordo com a metodologia do Perfil Descritivo Quantitativo (PDQ) seguindo as normas da ABNT NBR ISO 13299:2017 (ABNT, 2017). Após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (para participantes maiores de 18 anos) foi aplicado um questionário para avaliar a disponibilidade, saúde, interesse e habilidade em utilizar termos descritivos e escalas. Desse modo, dez homens e dez mulheres na faixa de 18 a 40 anos foram recrutados. Na etapa de pré-seleção foi realizado o teste de reconhecimento de odores (onde foram selecionados 16 aromas comuns, alho, café, camomila, canela, cebola, chocolate, coentro, cravo, erva doce, leite, menta, orégano, pipoca, queijo parmesão, suco de uva, vinagre), gostos básicos (salgado, doce, ácido, amargo e umami) e triangular (com três amostras de queijo de coalho codificadas com três dígitos). Aqueles que obtiveram resultados satisfatórios foram convidados para integrar a equipe sensorial (ABNT, 2017).

Em seguida foi realizado o levantamento de atributos, utilizando-se o método rede, que consiste na análise das amostras e descrição das sensações percebidas em relação aos atributos, aroma, textura, sabor, aparência e qualidade global, informando-se as similaridades e diferenças entre queijos de coalho obtidos comercialmente (DUTCOSKY, 2007). Sendo assim, após reunião com todos os provadores, foi elaborada uma lista contendo os atributos percebidos para avaliação do queijo de coalho e também foram definidos termos descritivos para serem utilizados nas etapas subsequentes. Para o treinamento, os termos descritivos estabelecidos anteriormente foram apresentados nas cabines de análise sensorial para estimular a percepção dos provadores quanto aos referenciais de intensidade determinados em escala linear (ABNT, 2017).

Na avaliação final, os provadores treinados receberam duas amostras de queijo de coalho (queijo de coalho padrão e queijo de coalho com micropartículas de alginato contendo eugenol) em copos brancos descartáveis tampados com papel e codificados. Entre o intervalo das provas das amostras os participantes receberam água mineral para que o sabor ou gosto residual da amostra anterior não interferisse na seguinte. O teste foi realizado em triplicata. A ficha de avaliação (Figura 2) continha uma escala não estruturada para cada termo descritivo. A escala foi composta por uma linha de nove centímetros, com expressões quantitativas (pontos-âncora) nas extremidades de cada termo. Os provadores por meio de um traço vertical na escala escolheram a posição que melhor referisse a sua avaliação para cada atributo. Os valores foram obtidos medindo-se a distância entre os pontos-âncora da extremidade esquerda e o traço vertical realizado pelo provador, com a utilização de uma régua (ABNT, 2017).

<u>PERFIL DESCRITIVO QUANTITATIVO DO QUEIJO DE COALHO</u>	
Nome: _____	Telefone: _____
AMOSTRA: _____	
Você está recebendo uma amostra queijo de coalho. Por favor, prove-a e marque com um TRAÇO VERTICAL na melhor posição que indique a sua resposta de acordo com os atributos abaixo:	
Atributos:	
<u>Aroma:</u>	
De queijo	Imperceptível Muito forte
Cravo	Imperceptível Muito forte
<u>Textura:</u>	
Maciez	Duro Macio
Compacidade	Aerado Compacto
Homogeneidade	Arenoso Uniforme
<u>Sabor:</u>	
Salgado	Imperceptível Muito forte
Ácido	Imperceptível Muito forte
Brando	Imperceptível Muito forte
<u>Aparência:</u>	
Uniformidade da cor	Heterogêneo Homogêneo
Tonalidade	Branco amarelado com variação de cores Branco uniforme
Forma	Irregular Regular
<u>Qualidade global</u>	Regular ótimo

Figura 2 – Ficha de avaliação descritiva de queijos de coalho com e sem micropartículas de alginato contendo eugenol

2.10 Teste de intenção de compra

Para o teste intenção de compra foi utilizada uma escala hedônica de 5 pontos variando entre certamente compraria (5) e certamente não compraria (1) para as amostras de queijo de coalho com e sem micropartículas de alginato contendo eugenol (DUTCOSKY, 2007).

2.11 Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística descritiva e interpretados com a ANOVA-Tukey, para determinação de diferenças estatísticas significantes ($p < 0.05$), utilizando-se o programa GraphPad Prism 5.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Definição das condições e processamento do sistema

De acordo com os ensaios prévios realizados foi possível alcançar as condições mais adequadas para a obtenção de micropartículas de alginato contendo eugenol. Nas condições em que não foi possível formar partículas estáveis, observou-se a saída do eugenol para a solução de cloreto de cálcio (através da mudança de cor e do aroma da solução catiônica) sendo confirmada em microscópio óptico as características de retenção do óleo na matriz polimérica e morfologia. Enquanto que, os melhores resultados foram evidenciados nas condições descritas no item 2.2, sendo verificada uma maior estabilidade do eugenol no sistema de encapsulamento.

3.2 Caracterização das micropartículas

3.2.1 Eficiência de Encapsulação (EE)

A EE é importante para determinar a quantidade de material bioativo presente no interior da matriz polimérica sendo que, elevados valores de EE potencializam a utilização do sistema de encapsulamento nas aplicações industriais. O valor obtido de EE das micropartículas de alginato contendo eugenol foi de $87,3\% \pm 1,4$ sendo considerada uma elevada faixa de encapsulação (RADÜNZ et al., 2019).

A escolha adequada do emulsificante é um dos principais fatores associados à EE e está relacionada com a oxidação lipídica e a estabilidade das emulsões. O polissorbato 80 (Tween 80) é um dos emulsificantes mais utilizados em alimentos devido as suas propriedades. Este ingrediente não possui carga e seu componente hidrofílico apresenta importância significativa em relação ao componente lipofílico, o que proporciona uma efetiva estabilidade das emulsões óleo em água. Sistemas com emulsão são comumente

utilizados na encapsulação de ingredientes lipofílicos na indústria de produtos alimentícios, podendo incluir emulsões múltiplas, óleo de camada única em emulsão de água e óleo em emulsão de água com camadas múltiplas (KAUSHIK et al., 2014; ARANCIBIA et al., 2017).

A seleção do encapsulante influencia diretamente na EE, adequação e estabilidade da micropartícula, o encapsulante deve ser próprio para consumo e biodegradável (GHARSALLAOUI et al., 2007; SILVA et al., 2014).

Soliman et al (2013) avaliaram o alginato de sódio como encapsulante e obtiveram uma alta EE (entre 90 e 95%). Radünz et al. (2019) também avaliaram a EE de encapsulação do óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*, L.) com alginato de sódio e diferentes emulsificantes (monolaurato de polioxietileno sorbitana e monoestearato de glicerol) obtendo valores altos entre 83,60% e 92,12%.

3.2.2 Tamanho médio, Índice de Polidispersão (PDI) e potencial zeta

As micropartículas são sistemas micrométricos com diâmetro entre 1-1000µm. Contudo, para serem incluídas em produtos alimentícios, partículas menores são mais viáveis, pois sua adição causa menores modificações nas características organolépticas do alimento. O tamanho médio das micropartículas de alginato contendo eugenol foi de $1,21 \pm 0,07$ µm, a obtenção deste tamanho pode ser atribuída ao bico de aspersão utilizado no equipamento de encapsulamento. A utilização do encapsulador BUCHI 395-PRO garante partículas mais homogêneas e com menor diâmetro (WHELEHAN; MARISON, 2011; ARSLAN et al., 2015; MARTÍN et al., 2015; SILVA, 2016).

O Índice de Polidispersão (PDI) é uma propriedade adimensional que fornece informações sobre a homogeneidade de distribuição do tamanho das partículas presentes no sistema. Foi evidenciado que as micropartículas obtiveram um valor médio de $0,15 \pm 0,08$. O PDI pode variar de 0 a 1, sendo que um $PDI < 0,3$ indica distribuição uniforme no tamanho das partículas e elevada homogeneidade (KAUR et al., 2008; GAUMET et al., 2008; MITRI et al., 2011; NGAN et al., 2014).

O valor médio do potencial zeta das micropartículas de eugenol foi de $-5,86 \pm 1,57$ mV. Para que a estabilidade de um sistema seja definida faz-se necessário a utilização de alguns indicadores inclusive, o potencial zeta, que é uma medida da carga da superfície e funcionalidade. A carga negativa evidenciada está diretamente relacionada com a estrutura química do alginato (material de parede utilizado na encapsulação), que consiste

em um polieletrólito aniônico o qual, tem carga líquida negativa resultante dos grupos carboxila carregados negativamente (COO^-) ao longo dos blocos de ácidos D-manurônico e L-gulurônico (BAJPAI; TANKHIWALE, 2006; SZABÓ; GERBER-LEMAIRE; WANDREY, 2020; WANG et al., 2020).

3.2.3 Morfologia

A estrutura das micropartículas foi avaliada por meio de microscopia óptica, com ampliação de 400x, sendo possível verificar que houve uma uniformidade e formato esférico das partículas (Figura 3).

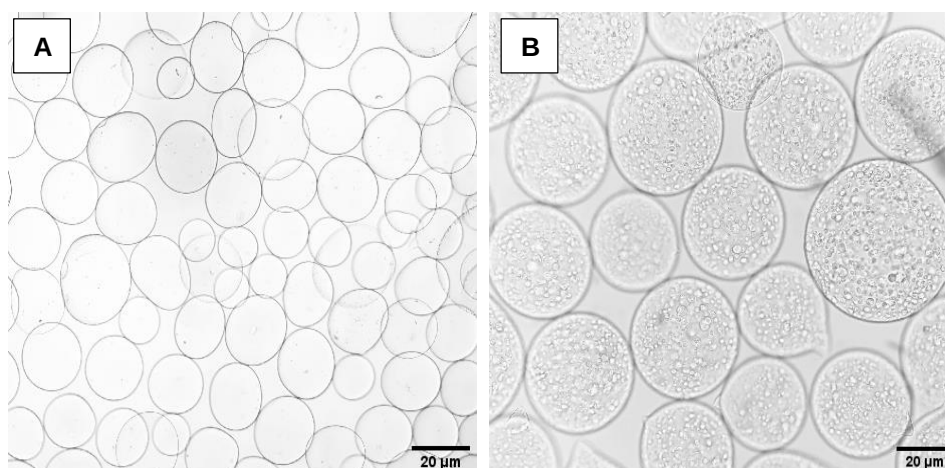


Figura 3 – Micrografias ópticas das micropartículas sem (A) e com adição de eugenol (B)

As imagens obtidas por MEV (Figura 4) evidenciaram que as apresentaram um aumento da espessura de parede, isto ocorre devido à adição do eugenol que modificou o tamanho de sua superfície. Foram observadas também irregularidades na superfície das micropartículas de alginato com e sem eugenol e aspecto rugoso mais acentuado nas partículas contendo o composto bioativo. O aspecto irregular das micropartículas pode ser atribuído ao processo de secagem em dessecador que é realizado na técnica de MEV, além disso, essas partículas também foram submetidas a vácuo para metalização. É importante destacar que as partículas produzidas por gelificação iônica foram resistentes ao processo de secagem mantendo seu formato esférico (SRISUWAN; SRIHANAM, 2018).

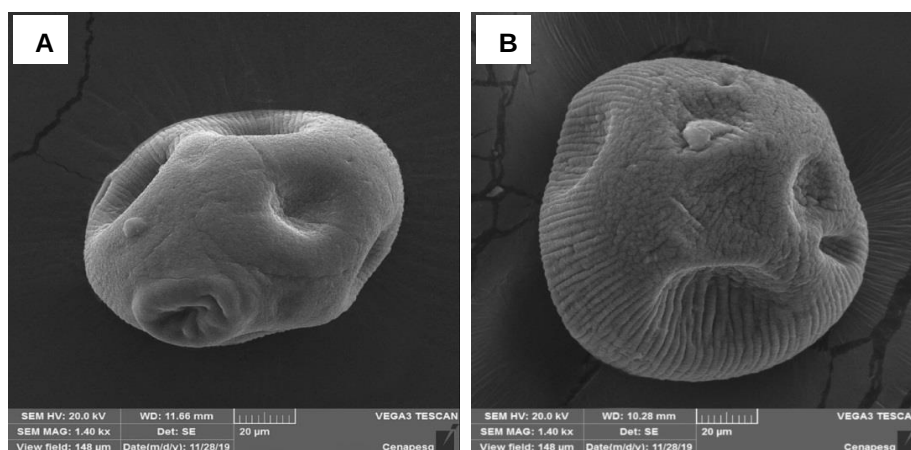


Figura 4 – Microscopia Eletrônica de Varredura das micropartículas sem (A) e com adição de eugenol (B)

3.3 Determinação da atividade antimicrobiana *in vitro* do eugenol e da micropartícula frente à cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)

Os resultados obtidos (Tabela 1) evidenciaram que o eugenol livre e encapsulado em matriz de alginato apresentaram atividade antimicrobiana frente à cepa de *S. aureus*. A CIM para eugenol livre foi de 0,5 mg/mL e para o eugenol encapsulado 1 mg/mL (que equivale a 0,009 mg/mL de eugenol). Enquanto que, a CIM da partícula de alginato foi > 4 mg/mL. Quanto a CBM do eugenol livre e das partículas avaliadas, estas foram > 4 mg/mL.

Tem-se atribuído ao eugenol maior eficácia contra cepas Gram-positivas como *S. aureus*, devido a sua estrutura fenólica. O mecanismo de atividade antibacteriana do eugenol desenvolve-se em nível de membrana plasmática e por meio da inativação de enzimas e/ou no material genético celular (CHAIEB et al., 2007; HEMAISWARYA; DOBLE; 2009; SIVASOTHY et al. 2011; BARBOSA et al. 2015).

Tabela 1 – Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Bactericida Mínima (CBM) do eugenol e micropartículas de eugenol

Bactéria	Identificação	Eugenol (mg/mL)		Partícula vazia (mg/mL)		Micropartícula de eugenol (mg/mL)	
		CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	0,5	> 4	> 4	> 4	1*	> 4

*1mg/mL de micropartícula corresponde a 0,009 mg/mL de eugenol.

3.4 Caracterização físico-química do queijo de coalho

O queijo de coalho experimental padrão elaborado para o experimento apresentou teor de umidade de $52,4 \pm 0,35\%$ e de lipídeos de $35,4 \pm 0,25\%$. Podendo-se notar que o produto, atendeu as exigências estabelecidas na Instrução normativa nº 30 (BRASIL, 2001), a qual determina um teor umidade classificada entre média (36,0 a 45,9%) e alta (46,0 a 54,9%) e de gordura entre 35,0% e 60,0% no produto. Desta forma o queijo produzido classificou-se como um alimento de alta umidade, o que é característico para este tipo de laticínio (BRASIL, 1996).

3.5 Análises microbiológicas

As amostras de queijo de coalho com e sem micropartículas de alginato contendo eugenol atenderam aos padrões microbiológicos exigidos pela legislação (BRASIL, 2001). As contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo nas amostras de queijo de coalho em todos os tempos foram <10 UFC/g, para coliformes termotolerantes obteve-se contagens $<5 \times 10^2$ UFC/g e quanto a *Salmonella* ssp. e *Listeria monocytogenes* não foi identificada a presença nas amostras avaliadas. Esses dados demonstram que os queijos experimentais apresentam-se próprios para consumo.

3.6 Atividade antimicrobiana *in situ* de micropartícula de eugenol sob a viabilidade de *Staphylococcus aureus*

Os resultados obtidos das contagens de células viáveis de *Staphylococcus aureus* em queijo de coalho experimental padrão e adicionado de micropartículas de alginato contendo eugenol estão apresentados na Tabela 2. A atividade antimicrobiana das micropartículas de alginato contendo eugenol em queijo de coalho revelou redução da carga de microrganismos ao comparar com as taxas das amostras controle. O tratamento foi mais eficaz no 1º e 5º dias de armazenamento quando comparado à amostra C (sem adição de micropartículas) com reduções logarítmicas microbianas de 1,1 e 1,17 respectivamente (Tabela 2).

A utilização de Óleos Essenciais (OEs) e seus fitoconstituintes têm sido amplamente avaliados *in vitro* e algumas vezes com análises *in situ*, que determinam sua eficiência como conservante natural de alimentos. Dentre os principais OEs, está o óleo

de cravo-da-índia que demonstra atividade antimicrobiana frente às principais bactérias contaminantes de produtos lácteos, como *S. aureus* e *L. monocytogenes* (ASENSIO et al., 2015; HAFEMANN et al., 2015; PREIS; CHAGAS; RIGO, 2015; MEDEIROS et al., 2016; BEDOYA-SERNA et al., 2018; BUKVICKI et al., 2018; DURÇO et al., 2020).

Tabela 2 – Curva de sobrevivência de *S. aureus* em queijo de coalho com eugenol adicionada à massa do produto armazenados por 30 dias sob refrigeração

Tempo	Queijo de coalho padrão	Queijo de coalho com micropartículas
1d	5,21 ± 0,01 ^{Aa}	4,11 ± 0,02 ^{Ba}
5d	5,31 ± 0,02 ^{Ab}	4,14 ± 0,01 ^{Ba}
10d	5,98 ± 0,01 ^{Ac}	5,85 ± 0,01 ^{Bb}
15d	6,19 ± 0,01 ^{Ad}	5,67 ± 0,02 ^{Bc}
30d	6,01 ± 0,01 ^{Ae}	5,64 ± 0,03 ^{Bc}

^{AB}Valores acompanhados com mesma letra maiúscula nas linhas não diferem significativamente ($p>0,05$) pelo teste de Tukey. ^{abcde}Valores seguidos com mesma letra minúscula nas colunas não diferem significativamente ($p>0,05$) pelo teste de Tukey.

3.7 Análise sensorial

A análise sensorial aplicada neste estudo foi a do PDQ que é caracterizada por descrever de forma abrangente todas as propriedades sensoriais de um determinado produto. Das 20 pessoas presentes na pré-seleção, 10 foram selecionadas para participar do treinamento até a avaliação final. Os atributos definidos pelos provadores podem ser observados na Tabela 3 que apresenta a definição dos atributos descritivos. Diante disso, foi possível obter os resultados para PDQ com as duas amostras de queijo de coalho (queijo de coalho padrão e queijo de coalho com micropartículas de alginato contendo eugenol) avaliando os seguintes atributos: aroma, textura, sabor, aparência e qualidade global.

Tabela 3 – Definição dos atributos definidos pelos provadores

Atributo	Definição
Aroma	
Queijo	Aroma característico de queijo de coalho
Cravo	Intensidade do odor típico de eugenol
Textura	
Maciez	Propriedade de textura que oferece pouca resistência à mastigação
Compacidade	Qualidade daquilo que é compacto
Homogeneidade	Característica do que é homogêneo
Sabor	
Salgado	Gosto característico de uma solução aquosa de cloreto de sódio

Ácido	Intensidade do sabor de frutas cítricas
Brando	Sabor característico de queijo de coalho
Aparência	
Uniformidade da cor	Cor característica de queijo de coalho
Tonalidade	Tonalidade característica de queijo de coalho
Forma	Uniformidade da forma característica de queijo de coalho
Qualidade global	Aparência do produto revelada na primeira impressão

De todos os atributos avaliados (Tabela 4) apenas, a textura (compacidade) obteve diferença estatística, demonstrando que as micropartículas de alginato contendo eugenol interferiram na compacidade do produto lácteo. No entanto, de forma geral as amostras apresentaram boa similaridade.

Tabela 4 – Média das notas por atributo para cada amostra de queijo de coalho

Atributos	Formulações	
	Queijo de coalho padrão	Queijo de coalho com micropartículas
Aroma		
De queijo	4,43 ^a	5,29 ^a
De Cravo	0,35 ^a	0,36 ^a
Textura		
Maciez	7,45 ^a	7,48 ^a
Compacidade	7,05 ^a	5,18 ^b
Homogeneidade	6,07 ^a	4,65 ^a
Sabor		
Salgado	0,65 ^a	2,08 ^a
Ácido	0,23 ^a	0,67 ^a
Brando	4,22 ^a	5,21 ^a
Aparência		
Uniformidade da cor	8,39 ^a	8,23 ^a
Tonalidade	8,16 ^a	7,96 ^a
Forma	8,15 ^a	6,64 ^a
Qualidade global	7,86 ^a	6,85 ^a

^{ab}Valores acompanhados com mesma letra na linha não diferem significativamente ($p > 0,05$) pelo teste de Tukey.

Os resultados de PDQ evidenciaram que as amostras de queijo de coalho padrão e adicionados de partículas de alginato contendo eugenol foram consideradas semelhantes em relação a: aroma lácteo, aroma de cravo, maciez, homogeneidade, salgado, ácido, brando, uniformidade da cor, tonalidade e forma, exceto para compacidade.

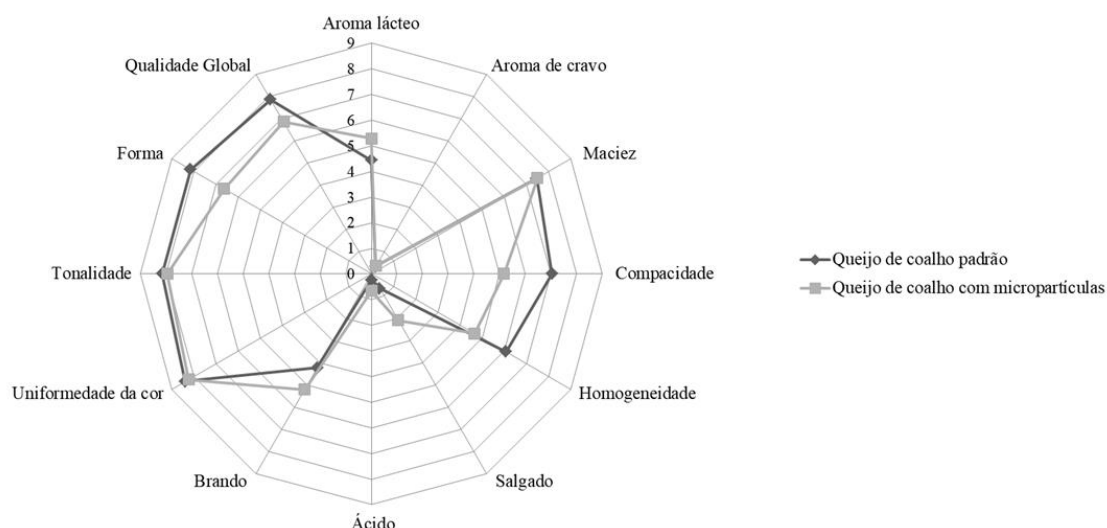


Figura 5 – Gráfico radar com as médias dos atributos das amostras de queijo de coalho padrão e com micropartículas de alginato contendo eugenol

3.8 Teste de intenção de compra

No teste de intenção de compra, os resultados evidenciaram (Figura 6) que as amostras de queijo de coalho padrão alcançaram o melhor resultado quanto ao termo “Certamente compraria o produto”. As amostras de queijo de coalho com micropartículas de alginato contendo eugenol receberam a melhor avaliação no termo “Provavelmente compraria o produto”. E ambas as amostras receberam a mesma avaliação para a resposta “Talvez comprasse/Talvez não comprasse”.

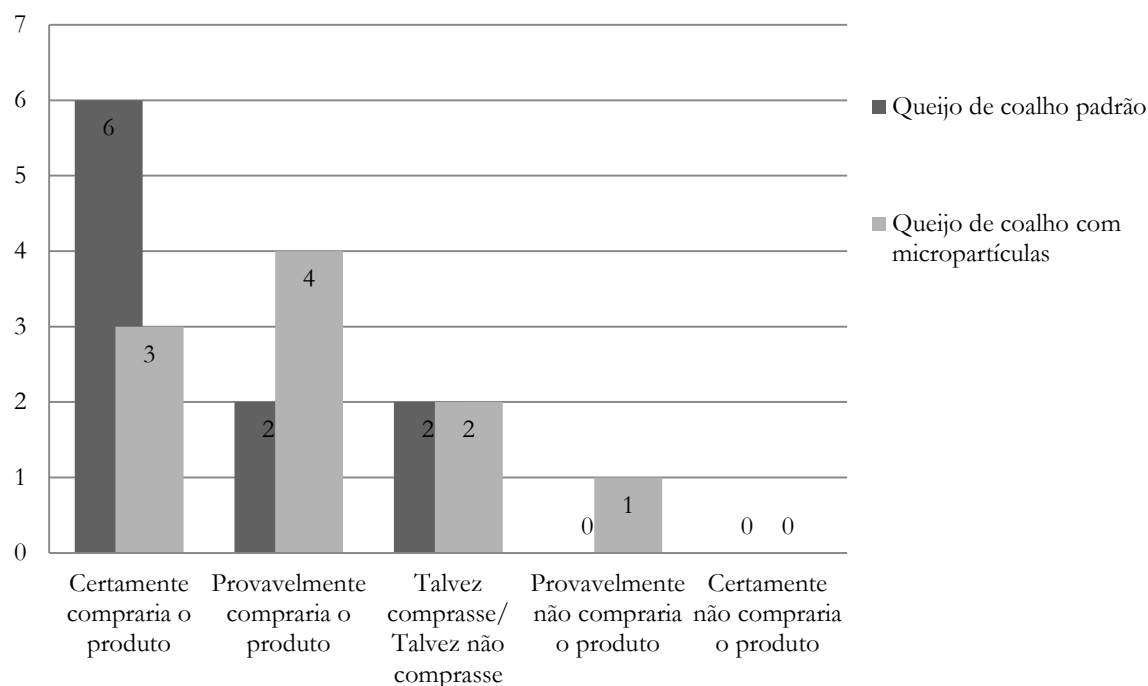


Figura 6 – Teste de intenção de compra das amostras de queijo de coalho padrão e com micropartículas de alginato contendo eugenol

CONCLUSÕES

As micropartículas de alginato contendo eugenol apresentaram alta EE, boa distribuição e uniformidade, além disso, foram eficazes na inibição do crescimento de *S. aureus* ATCC 6538 tanto *in vitro* quanto *in situ* (em queijo de coalho). Quanto às características sensoriais, as amostras de queijo de coalho com micropartículas foram similares às amostras de queijo de coalho padrão, exceto para o atributo compactidade. Os dados obtidos evidenciaram que o eugenol encapsulado em matriz polimérica de alginato tem o potencial promissor para ser utilizado como conservante natural em alimentos em substituição aos aditivos químicos sintéticos.

REFERÊNCIAS

ABNT NBR ISO 13299. Sensory analysis — Methodology — General guidance for establishing a sensory profile. 50 p. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**, Brasília. 2017.

ANDRADE, A. A. **Estudo do perfil sensorial, físico-químico e aceitação de queijo de Coalho produzido no estado do Ceará**. 127f. Dissertação (Mestrados em Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Ceará, 2006.

ALFIKRI, F.N. et al. Yield, quality, and antioxidant activity of clove (*Syzygium aromaticum* L.) bud oil at the different phenological stages in young and mature trees. **Scientifica**, v. 2020, p. 1–8, 2020.

ASENSIO, C. M. et al. Quality preservation of organic cottage cheese using oregano essential oils. **LWT-Food Science and Technology**, v. 60, n. 2, p. 664-671, 2015.

ARANCIBIA, C. et al. Comparing the effectiveness of natural and synthetic emulsifiers on oxidative and physical stability of avocado oil-based nanoemulsions. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 44, n. May, p. 159–166, 2017.

ARSLAN, S. et al. Microencapsulation of probiotic *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* with different wall materials by spray drying. **LWT Food Science and Technology**, v. 63, n. 1, p. 685-690, 2015.

BAJPAI, S. K.; TANKHIWALE, R. Investigation of water uptake behavior and stability of calcium alginate/chitosan bi-polymeric beads: Part-1. **Reactive and functional polymers**, v. 66, n. 6, p. 645-658, 2006.

BEDOYA-SERNA, C. M. et al. Antifungal activity of nanoemulsions encapsulating oregano (*Origanum vulgare*) essential oil: in vitro study and application in Minas Padrão cheese. **Brazilian journal of microbiology**, v. 49, p. 929-935, 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 30, de 26/06/2001**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Coalho. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003**. Oficializa os Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Portaria nº. 146**, de 7 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, p.3977, 11 de março 1996.

BREWER, M.S. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.10, p.221-47, 2011.

BUKVICKI, Danko et al. Cheese supplemented with *Thymus algeriensis* oil, a potential natural food preservative. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 5, p. 3859-3865, 2018.

CHAIEB, K. et al. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. **Phytotherapy Research**, v. 21, n.6, p. 501- 506, 2007.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2019) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 29th edn. **CLSI document M100**. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne

DELSHADI, R. et al. Micro and nano-encapsulation of vegetable and essential oils to develop functional food products with improved nutritional profiles. **Trends in Food Science & Technology**, v. 104, p. 72-83, 2020.

DURÇO, B. B. Tendências e desafios da aplicação dos óleos essenciais em produtos de origem animal. **Revista Agron Food Academy-mar**, p. 1, 2021.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 2 ed. ver. e ampl. Curitiba: Champagnat, 239p., 2007

DUTCOSKY, S.D. **Análise sensorial de alimentos**. 3. ed. Curitiba: Champagnat, 427p., 2011.

DOMÍNGUEZ, R. et al. Active packaging films with natural antioxidants to be used in meat industry: A review. **Food research international**, v. 113, p. 93-101, 2018.

GAONKAR, A. G. et al. **Microencapsulation in the Food Industry**. Elsevier Science Publishing Company, p. 557-569, 2014.

GAUMET, M. et al. Nanoparticles for drug delivery: the need for precision in reporting particle size parameters. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 69, n. 1, p. 1-9, 2008.

GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. **Food Research International**, v. 40, p. 1107-1121, 2007.

GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Natural products as antimicrobial agents. **Food Control**, v. 46, p. 412–429, 2014.

HAFEMANN, S. P. G. et al. Ricota com adição de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* Linneus): avaliação físico-química, sensorial e microbiológica. **Revista brasileira de produtos agroindustriais**, v. 17, n. 3, p. 317-323, 2015.

HEMAISWARYA, S.; DOBLE, M. Synergistic interaction of eugenol with antibiotics against Gram negative bacteria. **Phytomedicine**, v. 16, n. 11, p. 997-1005, 2009.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do IAL. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 5.ed. São Paulo, 2008.

IRKIN, R.; ESMER, O. K. Novel food packaging systems with natural antimicrobial agents. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 10, p. 6095-6111, 2015.

- KAUR, I. P. et al. Potential of solid lipid nanoparticles in brain targeting. **Journal of Controlled Release**, v. 127, n. 2, p. 97–109, 2008.
- KAUSHIK, P. et al. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. **Journal of Functional Foods**, 2014.
- KUJUR, A. et al. Microencapsulation of Gaultheria procumbens essential oil using chitosan-cinnamic acid microgel: Improvement of antimicrobial activity, stability and mode of action. **LWT**, v. 86, p. 132-138, 2017.
- MARTIN, M. J. et al. Microencapsulation of bacteria: a review of different technologies and their impact on the probiotic effects. **Innov Food Sci Emerg**, v. 27, p. 15–25, 2015.
- MEDEIROS, R. S. et al. Identification of lactic acid bacteria isolated from artisanal Coalho cheese produced in the Brazilian Northeast. **CyTA-Journal of Food**, v. 14, n. 4, p. 613-620, 2016.
- MITRI, K. et al. Lipid nanocarriers for dermal delivery of lutein: Preparation, characterization, stability and performance. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 414, n. 1–2, p. 267–275, 2011.
- NANASOMBAT, S.; WIMUTTIGOSOL, P. Antimicrobial and antioxidant activity of spice essential oils. **Food Science and Biotechnology**, v. 20, n. 1, p. 45-53, 2011.
- NASSU, R. T.; MACEDO, B.A.; LIMA, M.H.P. Queijo de Coalho. **EMBRAPA Informação Tecnológica**. Brasília, 2006.
- NEDOVIC, V. et al. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1806-1815, 2011.
- NGAN, C. L. et al. Physicochemical characterization and thermodynamic studies of nanoemulsion-based transdermal delivery system for fullerene. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.
- PERRICONE, M. et al. Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 76, 2015.
- PRAKASH, B. et al. Nanoencapsulation: An efficient technology to boost the antimicrobial potential of plant essential oils in food system. **Food control**, v. 89, p. 1-11, 2018.
- PREIS, C.; CHAGAS, T. E. R.; RIGO, E. Avaliação da ação antimicrobiana de óleo essencial de oregano (*Origanum vulgare*) em ricotas adicionadas de especiarias. In: **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos**. 2015.
- PROKOPOV, T.; TANCHEV, S. Methods of food preservation. In: **Food safety**. Springer, Boston, MA, p. 3-25, 2007.

RADÜNZ, M. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. **Food chemistry**, v. 276, p. 180-186, 2019.

RESENDE, D.B. et al. Synthesis and *in vitro* evaluation of peracetyl and deacetyl glycosides of eugenol, isoeugenol and dihydroeugenol acting against food-contaminating bacteria. **Food Chemistry**, v.237, p.1025-1029, 2017.

RONG, Z. et al. Antimicrobial activity of clove essential oils and eugenol against food-borne Bacteria. **Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis**, 2013.

SAGDIÇ, O. Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v. 36, n. 55, p. 467-473, 2003.

SIVASOTHY, Yasodha et al. Essential oils of *Zingiber officinale* var. rubrum Theilade and their antibacterial activities. **Food chemistry**, v. 124, n. 2, p. 514-517, 2011.

SILVA, P. T. et al. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, v. 44, p. 1304-1311, 2014.

SILVA, K.C. **Produção de microgéis simbióticos de gelatina-alginato e simulação da liberação controlada em condições gastrointestinais**. 110f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, 2016.

SOLIMAN, H. I. A. Cryopreservation of in vitro-grown shoot tips of apricot (*Prunus armeniaca* L.) using encapsulation dehydration. **African Journal of Biotechnology**, v.12, p.1419-1430, 2013.

SRISUWAN, Y.; SRIHANAM, P. Preparation and characterization of keratin/alginate blend microparticles. **Advances in Materials Science and Engineering**, v. 2018, 2018.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.- The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.10, p. 63-68, 1959.

SZABÓ, L.; GERBER-LEMAIRE, S.; WANDREY, C. Strategies to functionalize the anionic biopolymer Na-alginate without restricting its polyelectrolyte properties. **Polymers**, v. 12, n. 4, p. 919, 2020.

TIWARI, B. K. et al. Application of natural antimicrobials for food preservation. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 57, n. 14, p. 5987-6000, 2009.

WANG, B et al. Palladium nano-catalyst supported on cationic nanocellulose–alginate hydrogel for effective catalytic reactions. **Cellulose**, v. 27, p. 6995-7008, 2020.

WHELEHAN, M.; MARISON, I. W. Microencapsulation using vibrating technology. **J Microencapsul.** v. 28, p. 669–688, 2011.

5 ARTIGO 2

Artigo Publicado na revista: International Journal of Advanced Research (IJAR)
(ISSN: 2320-5407)

 ISSN NO. 2320-5407	Journal Homepage: -www.journalijar.com INTERNATIONAL JOURNAL OF ADVANCED RESEARCH (IJAR) Article DOI:10.21474/IJAR01/8222 DOI URL: http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/8222	 INTERNATIONAL JOURNAL OF ADVANCED RESEARCH (IJAR) ISSN 2320-5407 Journal Homepage: http://www.journalijar.com Journal DOI:10.21474/IJAR01
---	--	--

RESEARCH ARTICLE

POTENTIAL APPLICATION OF MICROENCAPSULATION IN THE FOOD INDUSTRY.

Dayane de Melo Barros¹, Erilane de Castro Lima Machado², Danielle Feijó de Moura¹, Maria Heloisa Moura de Oliveira³, Tamiris Alves Rocha⁴, Silvio Assis de Oliveira Ferreira⁴, Roberta de Albuquerque Bento da Fonte² and Ranilson de Souza Bezerra⁵.

1. Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente – Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, CAV/UFPE – Pernambuco.
2. Doutora em Nutrição – Universidade Federal de Pernambuco – Pernambuco.
3. Discente de bacharelado em Nutrição – Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, CAV/UFPE- Pernambuco.
4. Mestre em Bioquímica e Fisiologia – Universidade Federal de Pernambuco – Pernambuco.
5. Doutor em Ciências Biológicas – Universidade Federal de Pernambuco – Pernambuco.

Manuscript Info

Manuscript History

Received: 16 October 2018

Final Accepted: 18 November 2018

Published: December 2018

Key words:

microparticle, production, review, techniques, food technology.

Abstract

In the food sector, encapsulation is a process of coating one or more food ingredients through an edible capsule. This is a relatively new technology that has been used successfully in the food industry. Several techniques have been used in the production of microparticles, such as: extrusion, *spray drying*, complex coacervation, fluidized bed, lyophilization, internal and external ionic gelation, liposomes and molecular inclusion. Microencapsulation, in addition to increasing the performance and availability of active agents, has solved limitations in the use of food ingredients, since it can suppress or attenuate undesirable organoleptic characteristics (flavors, odors and color) of some compounds, reduce volatility and reactivity and increase their stability under adverse environmental conditions (oxygen, light, moisture, pH and incompatible agents). The present study presents a review of the literature on encapsulation in food technology - history of encapsulation/microencapsulation, encapsulating agent, encapsulated agent, controlled release mechanisms, techniques used in microencapsulation and potential application in the food industry.

Copy Right, IJAR, 2017,. All rights reserved.

Introduction:-

The food industry has been using formulations in the micrometric range to increase the shelf life of perishable foods, as well as incorporating vitamins and nutraceutical compounds, with the interest of offering a product differentiated in the market and that provides actions beneficial to human health (HERRERO et al., 2006, COMAN et al., 2012; SILVA et al., 2014; SILVA et al., 2015).

In this scenario microencapsulation has applicability in several areas, such as pharmaceutical, cosmetic and agrochemical, being also used in the alimentary area (REBELLO, 2009; PHISUT, 2012; NESTERENKO et al., 2013).

Corresponding Author:-Dayane de Melo Barros.

Address:-Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente – Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco, CAV/UFPE – Pernambuco.

In the segment of technology associated with the encapsulation of food products, in an environment of competitiveness, the innovation factor is paramount. The technological innovation in the systems of encapsulation of ingredients allows creating differentials in products that can provide the most varied sensations for the consumer. The encapsulation technology is in increasing expansion and constant evolution, being of competence of the scientific community of the science and technology of food and of the industries to be kept abreast both in relation to the use of new materials, as in the techniques employed, that transform ideas products with high added value (azeredo, 2005; favaro-trindade, pinho and rocha, 2008; nedovic et al., 2011; oliveira junior et al., 2012; pereira et al., 2018).

In the food industry, encapsulation has been used as a way to enable liquid and solid ingredients to effectively barrier against environmental and/or chemical interactions, until the desired release (CARMO et al., 2015). One of the major advantages of microencapsulation technology is the controlled release, whose technique allows extending the spectrum of applications of the compounds of interest, being considered not only an additional, but also a source of new ingredients with unique characteristics (GOUIN, 2004).

The present study aimed to identify available evidence on the potential application of microencapsulation in the food industry. The present study aimed to identify available evidence on the potential application of microencapsulation in the food industry.

History about encapsulation/microencapsulation:

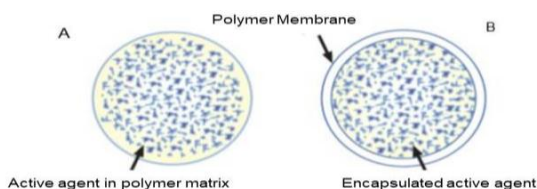
the encapsulation consists of a technology of packaging of particles (liquid, gaseous or solid) in edible capsules being considered a favorable tool to optimize the release of molecules and living cells through particles (kailasapathy and masondole, 2005; nedovic et al., 2011). the carrier material forming the capsule is known as encapsulant, wall material or cover and the encapsulated material may be called encapsulated agent, active agent, core or fill (azeredo, 2005; suave et al., 2006).

The first studies of the use of the microencapsulation technique were verified in the 30's mediated by the US National Cash Register, which became a pioneer in the commercialization of carbonless copy paper (in the 1950s). This paper was covered by a thin layer of colorless ink microcapsules. This paper was covered by a thin layer of colorless ink microcapsules. When writing with a pen, that is, by pressing under the surface of the paper, there was the rupture of the microcapsules leading to the release of the colorless ink that, when interacting with the reagent, became colored, generating on the sheet underneath a copy of what was being written in the first role (FIB, 2017).

The distinction between encapsulation, microencapsulation and nanoencapsulation is basically the size of the capsule. According to Rebello (2009) the capsules can be classified according to the diameter into three categories: macrocapsules ($>5000\mu\text{m}$), microcapsules ($0.2\text{--}5000\mu\text{m}$) and nanocapsules ($<0.2\mu\text{m}$).

The microparticles are subdivided into microspheres and microcapsules (Figure 1), according to their structure, so that capsules where the nucleus is evenly dispersed in a matrix result in so-called microspheres and capsules in which the nucleus concentrates in the central region, wrapped by a defined and continuous film of the wall material characterize the microcapsules. The most relevant difference between the microspheres and the microcapsules is that in the microspheres a small fraction of the "encapsulated" material remains exposed on the surface, which is prevented by the true encapsulation (AZEREDO, 2005; SUAVE et al., 2006).

Figure 1:-Microsphere (A): the nucleus is distributed in a polymer matrix; Microcapsule (B) the core is surrounded by the encapsulating agent (polymer)



Source: Adapted from Suave et al., 2006.

Encapsulating agent or wall material:

In the microencapsulation system a wide quantitative of encapsulating agents or wall materials has been employed, which are responsible for the coating of the active agents (encapsulated), leading to the formation of the microparticles (AZEREDO, 2005).

Various materials can be used as encapsulating agents to obtain good coverage, these agents may be of natural, semi-synthetic and synthetic origin as shown in Table 1.

Table 1:-Encapsulating agents used in encapsulation according to their origin

Encapsulating agents	Examples
Natural	Sodium alginate, carrageenan, gelatin, gum arabic, agar, dextran, chitosan, caseinate, sucrose and wax.
Semisynthetic	Hydroxypropylcellulose, methylcellulose, sodium carboxymethylcellulose, myristyl alcohol, monoglycerol, diacylglycerol or dipalmitate, monostearate, glycerol distearate and tristearate, cellulose acetate, cellulose nitrate, ethylcellulose.
Synthetic	Polymers of acrylic acid and copolymers.

Source: Adapted from ANSON, 2005 and Laurenti and Garcia, 2013.

The choice of a specific encapsulating agent depends on several factors, among which are: non-reactivity with the material to be encapsulated, the method used to form the microcapsule, the ideal release mechanism, the physical and chemical properties of the nucleus and of the wall and economic factors (AZEREDO, 2005; FAVARO-TRINDADE, PINHO and ROCHA, 2008).

According to Weiss, Takhistov and McClements (2006) each type of encapsulant has specific advantages and disadvantages for the encapsulation, protection, release of functional ingredients, as well as cost, ease of use, biodegradability and biocompatibility.

The efficiency of the microparticles depends on their surface structure, since, while the outer film forms microparticles free of deformation, the functionality of the wall material in the retention of the active agent will be greater, i.e., the active agent will be surrounded and protected from the through the encapsulating agent (ROSENBERG and YOUNG, 1993).

The encapsulating agents commonly used to encapsulate food ingredients are: polymers, polysaccharides, cellulose and derivatives, lipids, proteins and certain inorganic compounds. Among polymers of natural origin, polysaccharides from the marine ecosystem such as sodium alginate, carrageenan and chitosan have their increasing application in encapsulation systems, these compounds can generate a more appropriate environment in specific regions of the food, for example, a more acidic environment on the surface of the product, favoring the effect of organic acids used as preservatives (MAIA, 2013). Torres and Karel (1985) achieved a concentration of sorbic acid on the surface of intermediate moisture products. The low surface pH required for the preservative efficiency was maintained by carrageenan.

Encapsulated agent or core:

According to Brasileiro (2011), the microparticles have a nucleus, in which the bioactive agents are found, this internal nucleus can be present in any physical state (liquid, solid and gaseous).

The core may be formed by a mixture of various agents such as: stabilizers, diluents and release modulating agents (VENKATESAN, MANAVALAN and VALLIAPPAN, 2009). The amount of materials that can be encapsulated is variable, among these compounds include hydrophobic and hydrophilic substances (JAIN, 2004).

Among the materials that can be encapsulated for use in the food industry are oils, vitamins, protein hydrolysates, acids, amino acids, flavorings, sweeteners, minerals, dyes, enzymes and microorganisms (JACKSON and LEE 1991; AUGUSTIN et al., 2001; FÁVARO-TRINDADE, PINHO and ROCHA, 2008).

Mechanism of controlled release of encapsulated agent or core:

The encapsulation enables the core to be isolated from the external environment under a controlled release mechanism, that is, up to the moment at which it is intended to be released. In order to improve the efficiency of the microencapsulation system, it is necessary to determine the effect of the microencapsulation in the microencapsulation system (GOUIN, 2004; SILVA et al., 2014). The main mechanisms involved in the release of the active agent are: diffusion, solvent activation, degradation activation, activation by pH control, activation by temperature and activation by pressure.

Diffusion-controlled release:

In the food industry, the diffusion mechanism has been widely used, being represented as one of the most relevant. The diffusion is based on the displacement of the active agent through the matrix, moving from a more concentrated region to a less concentrated region (AZEREDO, 2005; SILVA et al., 2014; RODRÍGUEZ et al., 2016).

It occurs particularly when the microparticle is intact (SILVA et al., 2014), being controlled by limitations of the mass transfer in the layer between the polymer matrix and the medium (PEREIRA et al., 2018).

According to the application of the microparticles it may be desirable for the diffusion of the active agent by means of the encapsulating agent to take place more slowly, that is, it does not immediately solubilize. In view of this, the transport of the active agent in the diffusion will depend on its ability to cross the membrane of the wall material which is porous, or rather its solubility in the matrix system (matalanis et al., 2011; zandi et al., 2015; rodriquez et al., 2016). The diffusion also depends on the size, shape, physical state and arrangement of the wall material (sobrinho and farias, 2012).

Solvent Activated Release:

In activation by contact with a solvent, the matrix can be released by complete dissolution of the wall material, rapidly releasing the food matrix or through its expansion, favoring the release. In this mechanism, cleavage of the intermolecular bonds present in the polymer chains takes place, during which degradation occurs the release of the encapsulated agent. The temperature is a factor that can influence in this process, through the expansion or contraction of the nucleus, dispersing the active agent (frascareli et al., 2012).

Degradation-enabled release:

Degradation-activated release occurs through the degradation of proteins and lipids, by the activity of protease and lipase enzymes, respectively (ROSEN, 2006).

pH controlled activated release:

Changes in pH may result in changes in the solubility of the wall material of the microparticles, providing release of the active agent. As for example, probiotic microorganisms can be encapsulated to tolerate acidic pH, and only be activated and dispersed at the alkaline intestinal pH (TOLDRÁ and REIG, 2011).

Temperature Activated Release:

Changes in temperature can also be a form of release of the encapsulated active agent. This process can occur through temperature sensitive release, used for compounds that collapse or expand when a critical temperature is reached and melt activated release, which is related to the melting of wall material (such as a modified wax or lipid) due to temperature elevation (DEPYPERE et al., 2003, PARK and MAGA, 2006).

Pressure activated release:

Another factor promoting the release of the active agent is through the pressure applied on the wall material of the microparticle, for example, the release of flavor compounds into chewing gums during chewing (DEPYPERE, et al., 2003; WONG et al. 2009).

Techniques employed in microencapsulation:

There are several techniques that are used or at least studied about microencapsulation, these can be classified in: physicochemical, physical or chemical methods (Table 2) for different food ingredients (FÁVARO-TRINDADE, PINHO and ROCHA, 2008; SOHAIL et al., 2011 and MARSANASCO, 2011).

Table 2:-Classification of encapsulation techniques

Methods	Techniques
Physico-chemical methods	Simple or complex coacervation, liposomes, micelles, emulsions, internal ionic gelation, solvent evaporation, process with nanostructured lipid matrices;
Physical methods	External ionic gelation, extrusion, <i>spray drying</i> , pan coating, freeze-drying, fluidized bed, supercritical fluids and spray coating;
Chemical methods	Molecular inclusion and polymerization.

Although there are several techniques of microencapsulation, the biggest challenge is to choose the most efficient and appropriate method, taking into account the application to be used and the type of coating material (ANAL and SINGH, 2007).

Description of the main techniques and potential application in the food industry:

The main techniques used in microencapsulation of active agents in food (Table 3) include: extrusion, *spray drying*, complex coacervation, fluidized bed, lyophilization, internal and external ionic gelation, liposomes and molecular inclusion (AZEREDO, 2005; BRASILEIRO, 2011).

Table 3:-Application of microencapsulation methods in the food industry

Technique	Food Compounds	Reference
Extrusion	Essential oils of orange (D-limonene), canola essential oil, kenaf seed oil.	Wang, Waterhouse and Sun-Waterhouse(2013), Lévic et al. (2015), Chew et al. (2015).
<i>Spray Drying</i>	Essential oils of orange (D-limonene), essential oil of cinnamaldehyde, clove essential oil (eugenol), oregano essential oil, basil oil essential oil, <i>Eucalyptus staigeriana</i> essential oil, rosemary essential oil, coffee oil, linseed oil.	Pereira (2007), Carvalho (2009), Frascareli (2010), Carmona (2011), Müller (2011), Carneiro (2011), Fernandes (2013), Garcia (2013), Felix (2014), Herculano (2014), Felix (2014).
Complex coacervation	Poppy seed oils, fish oils, thyme essential oil, orange essential oil (D-limonene), buriti oil.	Alvim and Grosso (2010), Müller (2011), Yang et al. (2015), Gonçalves (2016), Lemos (2017).
Fluidized bed	Particles of crystal sugar seeds, sugar pellets, microcrystalline cellulose, microcrystalline cellulose pellets, rice and cassava flour, carnauba wax and fish oil.	Grosso and Vitali (2001), Benelli et al. (2015), Paulo (2017).
Freeze-drying	Carotenoids such as Lycopene, β -carotenes, amino acids (valine), Vitamins (α -Tocopherol).	Desobry et al. (1997), Farias et al. (2007).
Ionic Gelation	Polymers including proteins such as collagen, albumin, gelatin, whey proteins and caseinates; polysaccharides such as alginate, carrageenan, chitosan and pectin; polyesters; acids ribonucleic (RNA) and deoxyribonucleic (DNA),	Anal and Singh (2007), Zhang et al. (2007), Barreto (2008), Albini (2012), Paglione (2018).

	essential oils.	
Liposomes	Compounds such as ascorbic acid, tocopherol, polyphenols, quercetin and food products such as fish oil and plant essential oils (terpinen-4-ol, carvacrol and thymol).	Liolios et al. (2009), Frenzel and Steffen-Heins (2015), Gibis et al. (2016), Juveriya et al. (2016), Amnuakit (2016).
Molecular Inclusion	Linear or branched chain aliphatic compounds, aldehydes, ketones, alcohols, organic acids, fatty acids, aromatic compounds and amines.	Del Valle (2004), Pandit et al. (2011), Anconi et al. (2012), Kuck (2016).

Extrusion:

Extrusion is a popular technique, because it is simple and low cost, moreover it does not involve the use of organic solvents and high temperatures, and consequently does not affect the material to be encapsulated (MORTAZAVIAN and SOHRABVANDI, 2006; PATIL et al., 2010; FAVARO-TRINDADE, HEINEMANN and PEDROSO, 2011; KENT and DOHERTY, 2014).

In the extrusion method, the molten or solution liquid core material is poured through the bore of a thin tube or syringe to form microdroplets, the size of which is dependent upon the orifice diameter and the material exit velocity. The drops contain the coating material or this is added when the drops fall or is injected. Solidification of the coating material may occur by solvent evaporation, solvent diffusion or chemical reaction (KRASAEKOOPT; BRANDARI and DEETH, 2003).

This method has been widely used for the microencapsulation of probiotics and volatile oils. It is emphasized that, one of the disadvantages of this technique is the formation of large particles, which limit the use of flavorings in applications where the taste is a determining factor (ETCHEPARE et al., 2016)

Chew et al. (2015) encapsulated kenaf seed oil by extrusion using pectin and alginate with chitosan coating, and evaluated changes in antioxidant and bioactive activities before and after in vitro digestion. The authors observed that microencapsulation of Kenaf seed oil offered a controlled and effective release system when compared to oil without encapsulation.

Wang, Waterhouse and Sun-Waterhouse (2013) investigated the feasibility of encapsulation of canola oil enriched with quercetin using alginate and pectin at different concentrations as coating materials. The addition of quercetin and the extrusion encapsulation increased the stability of the oil. Both formulations of alginate and pectin showed good results regarding the preservation of canola oil, evidencing it as a good option in the encapsulation of this type of substance.

In the study by Stojanovic et al. (2012), the extrusion technique was applied to encapsulate the aqueous extract of thyme in calcium alginate gel beads to produce dosage formulations containing polyphenolic compounds. The authors concluded that the use of the hydrogel material to encapsulate by extrusion of vegetable polyphenols improved its functionality and stability in food products.

When investigating extrusion encapsulation of a flavoring compound, D-limonene (compound present in citric essential oil). Lévic et al. (2015) have analyzed that the alginate particles with wall material of this compound are suitable for the incorporation of D-limonene maintaining its thermal stability under specific conditions.

Spray Drying:

Microencapsulation by *spray drying* involves the dispersion of the cells in a polymer solution, which is atomized in a drying chamber (SILVA et al., 2014). This leads to solvent evaporation and, consequently, the formation of the microcapsules (MARTÍN et al., 2015).

Spray drying includes: the preparation of the dispersion or emulsion to be processed, the homogenization of the dispersion and the atomization inside the drying chamber (GHARSALLOUI et al., 2007). During *spray drying*, the

temperature of the droplets increases slightly, while its water content decreases, so, through the differences between the molecular weight of the water and the volatiles, the reduction in the diffusivity of the volatiles is greater than in the water, allowing, but good retention.

This common and low-cost technique is considered to produce microencapsulated food materials, equipment is readily available and production costs are relatively small. It has been used for decades to encapsulate mainly flavors, lipids and pigments, but its use in thermosensitive products such as microorganisms and essential oils can be limited due to the use of high temperatures which causes product volatilization and / or destruction (GHARSALLOUI et al., 2007).

Pereira (2007) investigated the efficiency of chitosan as a wall material in the microencapsulation process of the phyto-constituent eugenol by means of the *spray drying* method and verified that the biopolymer was efficient in the microencapsulation process, and this technique could be considered as a viable alternative in the encapsulation of volatiles.

Santos, Favaro-Trindade and Grosso (2005) evaluated the microencapsulation of paprika oleoresin by *spray drying* using encapsulating agents (gum arabic and porous starch / gelatin granules). The production of microcapsules of paprika oleoresin with the encapsulating agents was successful as it was able to protect the carotenoids against factors that cause oxidation of this pigment.

Carmona (2011) confirmed in his study that the process of obtaining orange oil microparticles by *spray drying* was fast and simple to perform.

Felix (2014) sought to evaluate the efficiency of the microencapsulation of cinnamaldehyde (cinnamaldehyde major essential phytoconstituent) with wall materials (gum arabic and protein isolate). All wall materials and combinations thereof associated with maltodextrin proved to be amenable to the microencapsulation of the volatile compound.

In the study by Carvalho (2009), when evaluating the encapsulation of oregano essential oil, it was able to confirm that the *spray drying* process was effective in the retention of the active compound, referring it as a viable technique.

According to Garcia (2013), there was an expressive increase in retention of basil essential oil by the microencapsulation technique in question, taking into account all wall materials (a combination of gum arabic, maltodextrin plus soy protein isolate and maltodextrin more whey protein concentrate) used, it is emphasized that this retention was optimized with increasing homogenization pressure.

Müller (2011) showed high efficiency of encapsulation in orange essential oil (99.32%), even after 10 months of storage, the microcapsules kept the oil concentrations stable.

In agreement with Garcia (2013), Frascareli (2010) to microencapsulate the coffee essential oil under high pressure in the homogenization, verified that the emulsions fed in the *spray drying* were stable, with smaller particle diameter and with less dispersion of the distribution.

Complex Coacervation:

Complex coacervation can be defined as a process in which a polyelectrolyte complex is formed. This process requires the mixing of two colloids, with pH adjustment. The two oppositely charged polymers are driven to a phase separation and formation of solid particles or closed liquid droplets (CHÁVARRI, MARAÑÓN and VILLARÁN, 2012).

In the food industry, this technique has been used for the encapsulation of several active food components such as: flavorings, probiotics, oils, nutrients, vitamins and enzymes (GOUIN, 2004; FANG and BHANDARI, 2010; AUGUSTIN and HEMAR, 2009; ALVIM and GROSSO, 2010).

The complex coacervation technique presents numerous advantages when compared to other techniques including: versatility, efficient control in particle size, possibility of using biopolymers with absence of organic solvents and soft conditions of processing temperature (MENEZES et al., 2013; JAMEKHORSHID, SADRAMELI and FARID, 2014). However, one of the limitations of complex coacervation is the difficulty of encapsulation of hydrophilic

compounds, the most appropriate technique being the incorporation of hydrophobic compounds (MENDANHA et al., 2009; SILVA et al, 2015).

The coacervation technique was performed by Yang et al. (2015). This study aimed to improve the stability of poppy seed oil and used gum arabic and gelatin as wall materials. The microcapsules showed good performance for the incorporation of the oil of poppy seeds, which possibly can be used in the food industries.

Comunian et al. (2013) used complex coacervation in ascorbic acid encapsulation. The researchers evidenced high values obtained in the encapsulation efficiency (between 97.33 ± 0.81 and $99.57 \pm 0.32\%$) of the compound, proving the efficiency of this technique against the said active agent.

In the study of Gonçalves (2016), it was possible to prove the efficiency of the same technique by microencapsulating the essential oil of thyme using gelatine/gum arabic as wall materials. The encapsulation efficiency was about 85.3% of the oil. Müller (2011) also obtained high values (99.49%) for the efficiency of the encapsulation of the orange essential oil through this system.

The values of buriti oil encapsulation efficiency through this technique revealed similarity with tests performed in other studies, obtaining results close to 80% (LEMOS, 2017).

Santos et al. (2015) opted for the coacervation technique to produce and characterize xylitol microcapsules for use in foods in order to prolong the sweet and refreshing effect provided by this ingredient and found that the encapsulation efficiency was relatively good in the case of a hydrophilic core, in addition, more than 70% of microencapsulated xylitol was released in artificial saliva over a period of 20 minutes.

Souza (2016) chose to encapsulate the cinnamon extract by the same technique and concluded that the encapsulated extract particles showed resistance when subjected to stress conditions and provided good stability of the encapsulated phenolic compounds during drying. In addition, the encapsulation process was able to mask undesired sensory characteristics, such as strong taste and astringency sensation caused by proanthocyanidins.

Fluidized bed:

According to Tewes, Boury and Benoit (2006), the fluidized bed encapsulation process basically consists of adding the components of the formulation to be prepared in a fluidized bed reactor, where a high velocity hot air stream is forced into through the solid particles of the active agent to be encapsulated, thereby forming the fluidized bed. In the inner part of the coating chamber, the solid particles of the core are coated by spray, dispersion or emulsion of the wall material or even of a melt, by controlled variables (humidity and temperature).

Generally, the fluidized bed may be used in the agglomeration of particles or in the production of particles, granulates, coated tablets and capsules (PARIKH, 1991).

This technique may contribute to the improvement of the characteristics of dry extracts due to the formation of granules with adequate fluidity, compressibility, appearance and uniformity, masking undesirable flavors and odors, or protecting against degradation by exposure to oxygen, light, moisture, pH and incompatible agents (SALEN and GUIGON, 2007; FÁVARO-TRINDADE, PINHO and ROCHA, 2008; LEE and SHIN, 2009; BENALI, GERBAUD and HEMAD, 2009).

Fluidized bed encapsulation also has other advantages such as: high degrees of contact between the two phases, heat and mass exchange, and degree of mixing within the dryer. In addition to ease of process monitoring, being considered an economically viable technique and ideal for thermosensitive products (LEE and SHIN, 2009).

However, there are some difficulties with this technique, among the main ones are: the defluidization, which occurs due to the formation of large particle agglomerates, drastically altering the dynamic activity of the system, and the phenomenon of friction that can generate losses of the material reducing the efficiency of the encapsulation (HEMATI et al., 2003).

There are several fluidized bed configurations for the atomization of the feed composition: the air suspension system or Wurster system, with bottom-spray feed, top-spray system) and system with tangential feed to the particle bed (BENELLI et al., 2015).

Fluidized bed coating processes are widely used in a number of industrial segments, including food and agriculture. These operations include: mixing, drying, coating, granulation, obtaining controlled release systems, among others (MURTHY and JOSHI, 2007; DIXIT and PUTHLI, 2009; FUKUMORI and ICHIKAWA, 2007).

A study by Benelli et al. (2015) analyzed the coating/agglomeration process of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract in fluidized bed with top spray atomization using particle seeds of natural origin (cassava flour and sugar pellets). Granules with excellent fluidity and high retention of phenolic compounds were obtained, confirming the viability of the fluidized bed as a promising method for the production of herbal compositions with appropriate physicochemical and pharmacotechnical properties.

In the application of the fluidized bed to coat the carnauba wax particles, Paulo (2017) used the following polysaccharides as a wall material: sodium alginate, gum arabic, chitosan, maltodextrin and Eudragit® L30-D55 and emphasized the importance of evaluating parameters as contact angle and viscosity for the selection of wall materials when using this type of technique, since only the suspensions containing Eudragit® L30-D55 and sodium alginate had the lowest contact angle ($\theta \cong 40^\circ$), low viscosity and were able to cover the carnauba wax particles (coating efficiency $\cong 55\%$).

Cardoso, Grosso and Vitali (2001) prepared microcapsules containing fish oil coated in a fluidized bed, and the encapsulation yields of the retained oil were high, being 88.9% in the particles covered with gelatin and 85.9% in the particles coated with calcium pectate. The highest yield obtained for gelatin coverage is possibly due to the use of only one spray system.

Freeze-drying:

Freeze-drying, also known as cryosecting or freeze-drying, is a process characterized by dehydration, so that the water or other solvent of the previously frozen product passes from the solid to the gaseous state (sublimation) in conditions of temperature and pressure. In this technique, in order for the water to pass directly from the solid to the vapor phase, the temperature and the partial pressure of water vapor must be lower than the triple point, ie 0.0099 °C and 4.58mmHg (BOSS, 2004; PEREDA, 2005).

Basically, the lyophilization system is formed by a vacuum chamber, a condenser, a compressor and the vacuum pump. The condenser, in the form of streamers, condenses the vapor released by the product into ice and the vacuum pump removes non-condensable vapors. This technique has three distinct stages: initial freezing stage, primary drying and secondary drying (PEREDA, 2005; MARQUES, 2008).

In the first stage, freezing of the product to be lyophilized, should generally be below a temperature of -18°C. This phase is of paramount importance for the quality of the final product and the performance of the lyophilization, since the size and homogeneity of the formed ice crystals characterize the shape, distribution, size and connectivity of the formed dry layer by sublimation, thus influencing the parameters that define heat transfer and mass in the product during primary and secondary drying (PEREDA, 2005; MARQUES, 2008).

In the primary drying, the frozen water is removed by sublimation, giving empty spaces inside the lyophilized product that were previously occupied by the ice. For this to happen, it is necessary to keep the frozen material below -10°C and absolute pressure of 2mmHg or less. At this stage, most of the water is removed, around 90% of the initial content (MARQUES, 2008; PEREDA, 2005).

And in secondary drying, after sublimation, significant amounts of bound water can still be left inside the product, requiring an additional potential. The driving force of this stage is heating (the temperature increases between 20 and 50°C), where the desorption of water occurs, with the final humidity reaching 2 to 10% (SNOWMAN, 1997; PEREDA, 2005; MARQUES, 2008).

Lyophilization has several advantages when compared to other drying processes which also use drying, i.e., drying at high temperatures, at ambient pressure and without prior freezing. The advantages include: lower product

contraction, higher solubility (due to the spongy structure left by the water outlet), avoids decomposition by heat, promotes the reduction of volatile loss without influencing product quality, as well as reduces enzymatic actions of microorganisms, prevents protein denaturation, and preserves the initial morphology of the material (ORREGO, 2008).

Despite the numerous advantages, this drying system also has some limitations, such as its long life. The causes of this limitation are mainly due to the low heat transfer performance inside the product and the reduced working pressures, which make the radiation the main mechanism of heat transfer, since, there is little convection and a low conduction between the surfaces of vacuum contact (HAMMAMI and RENÉ, 1997).

Another limiting factor is the high cost to use this technique, since it has a relatively low drying rate, generating high energy consumption for sublimation and for the removal of water vapor from the chamber (KOROSHI, 2005).

As for indications, this technique is commonly indicated for thermosensitive materials such as: biological materials (fungi, enzymes, tissues), pharmaceutical materials (antibiotics, vaccines, serums) and foods (juices, meats, vegetables, fruits) temperatures and basically work under vacuum, promotes the generation of products with superior quality when compared to those obtained through other drying techniques (MARQUES, 2008).

In the food context, this system provides high retention of the sensory characteristics and nutritional quality of the food, in addition to increasing the shelf life when properly packaged. Depending on the food, storage at room temperature is possible. The volatile aromatic compounds are not absorbed by water vapor and are retained in the food matrix, with a possible retention of 80 to 100% of the food flavor. Furthermore, it facilitates the transportation process, due to the lightness of the product obtained and because it does not require refrigeration, leading to a lower transportation cost (EVANGELISTA, 2005).

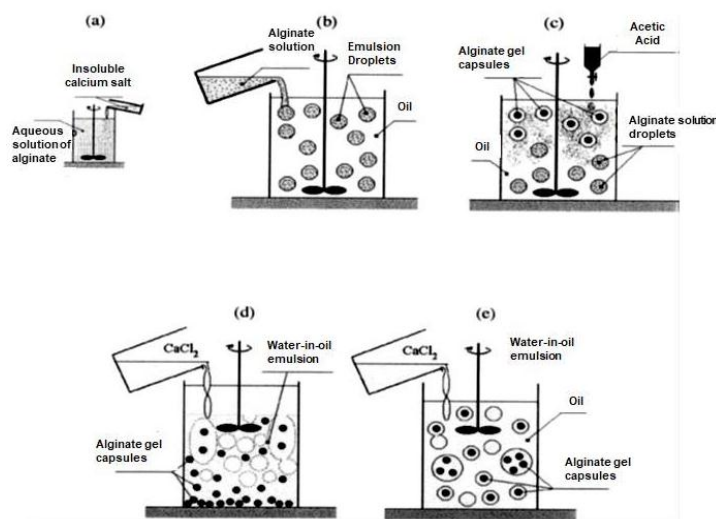
Desobry et al. (1997) reported that lyophilization encapsulation resulted in lower degradation of β -carotene during the process (8%). In contrast, its high cost and long process time hamper its commercial applicability.

Ionic Gelation:

This technique is based on the ability of anionic polysaccharides (such as alginate, pectin, carrageenan gum and gellan gum) to gel in the presence of ions such as calcium (BUREY et al., 2008; SILVA et al., 2006). The mechanisms of ionic gelling for the production of particles have been performed, mainly by two processes: internal and external gelation.

Internal Gelling:

The internal ionic gelation forms particles by the addition of calcium salts, directly in the polymer solution containing inclusion material. The ionic gelation occurs after reduction of pH, with the addition of an acidic solution in the water-in-oil emulsion, to release the calcium ions, allowing the complexation of calcium with the carboxylic groups. The emulsions formed may be water-in-oil (W/O), oil/water (O/W) or oil/oil (O/O) (Figure 2) (HELGERUD et al., 2009; SCHOUBBEN et al., 2010; SMRDEL et al., 2008). In both cases, the so-called internal phase, to which the polymer is dissolved, is an organic solvent having a limited solubility in the outer phase of the emulsion, which may be water, forming an emulsion. An insoluble or partially insoluble calcium salt is previously present inside the emulsion droplets. An acid is then added to the medium which propagates along the continuous phase into the droplets. The pH reduction occurs and Ca^{+2} ions are released following gelation (PONCELET, 2001; O'DONNELL and MCGINITY, 1997; CHAN, LEE and HENG, 2006).

Figure 2:-Different stages of preparation of alginate capsules by the internal ionic gelation method

Source: Adapted from Poncelet et al., 1999.

Through ionic gelling, carbohydrate-rich protein diets can be produced, as well as incorporating hydrophobic particles in their composition with the use of hydrocolloids, acting efficiently as an impermeable matrix for oxygen, acidity and certain organic compounds (MUKAI-CORRÊA et al., 2004; LUPO et al., 2014).

In the food industry, the most commonly used hydrocolloids are alginate and pectin, naturally occurring hydrophobic polyelectrolytes with an advantageous membrane biocompatibility and absence of interfacial tension with fluids (VOS et al., 2010; TEIXEIRA et al., 2014; CHAN, LEE and HENG, 2006).

Cho, Shim and Park (2006) microencapsulated fish oil into double emulsions obtained by the gelling technique. Initially, an oil-in-water emulsion was produced by dispersing the fish oil into soy protein isolate. This emulsion was subsequently dispersed in corn oil to form a double o/w/o emulsion. To initiate gelation the enzyme transglutaminase. The resulting microcapsules showed spherical structures with an average diameter of 23µm. In general, this method improved the stability of the active agents and enabled the controlled release.

Laine et al. (2011) microencapsulated rapeseed oil through emulsification (oil in water) using modified oat bran. The researchers found that among the independent variables, the bran content had a greater effect on the emulsion properties, although there was a reduction in viscosity and homogenization pressure. With this result, it could be stated that the modified oat bran has an excellent ability to form stable emulsions which may be suitable for this microencapsulation technique.

In the study by Sarkar et al. (2012), microcapsules of mint oil with gum arabic and guar gum (irradiated) were produced by emulsification followed by *spray-dryer*. The microcapsules were analyzed for retention of mint oil over the 8 week period. The results obtained demonstrated that guar gum irradiated at 50kGy can be used in the partial substitution of gum arabic for encapsulation of sensitive food ingredients, since in this condition there was greater retention during storage period.

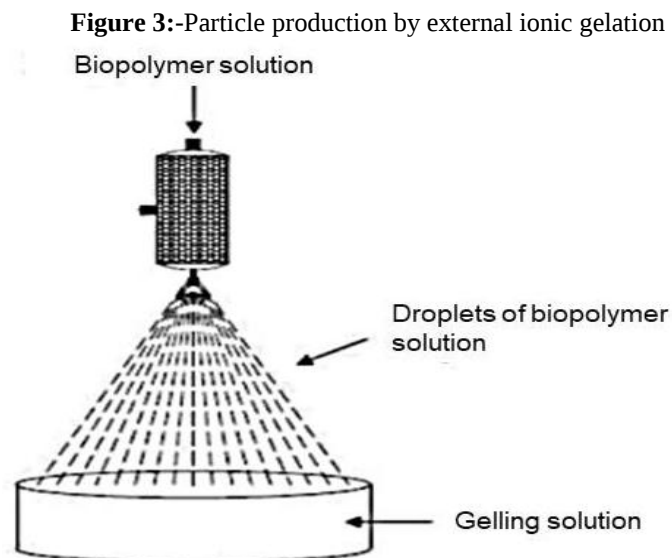
Lupo et al. (2014) microencapsulated polyphenols extract by internal ionic emulsification / gelation and reported that the microcapsules of citrate and carbonate salts had a smaller diameter and an encapsulation efficiency of 60%. They concluded that the microparticles of cocoa could increase the daily intake of antioxidants when implemented in a food product.

Holkem, Codevilla and Menezes (2015) have stated that the emulsification using double emulsion is being used extensively in the encapsulation of oils since it favors a better protection for the active agents. The emulsions may be water-oil-water (w/o/w) or oil-water-oil (o/w/o).

External Ionic Gelation:

In the external ionic gelation a solution of biopolymer containing the material of interest is dripped onto an ionic solution at appropriate concentrations and considerable levels of encapsulated active agent and particles of different shapes and sizes can be achieved (Figure 3). The interactions of the ions with the carboxylate groups of polysaccharides lead to the formation of insoluble gels (ARANHA, 2015).

The hardening of the particles occurs rapidly, starting at the surface, in which the divalent ions react with the negatively charged biopolymer chains, this results in the formation of a rigid three-dimensional structure, with high water content, through which the ions diffuse into the particle, providing the cross-linking from the outer part to the inner part (SMRDEL et al., 2008; HELGERUD et al., 2009; SCHOUBBEN et al., 2010).



Source:-Adapted from Aranha, 2015.

The ionic gelling particles can be produced by extrusion and atomization. By extrusion, the solution with the wall material and active agent is dripped into an ionic solution through a needle, with or without controlled speed. In the atomization, the compressed air mixes with the solution to be encapsulated, pressing the exit of the solution through a orifice of controlled size (BUREY et al., 2008; PATIL et al., 2010).

Ionic gelling is a simple technique, which does not require the use of organic solvents, pH or extreme temperature, making it low cost when compared to other encapsulation systems. In addition, it enables the encapsulation of hydrophilic or hydrophobic substances (MCCLEMENTS, 2005). In contrast, although the ionic gelling particles are suitable for encapsulation, they are sensitive to extreme pH values. There is also another limiting factor which is the porosity of the matrix which generates the release of the encapsulated substance. In order to overcome this drawback, the structure of the gel can be changed by combining various types of biopolymers in order to assure the advantage of the chemical composition of each compound or to promote its interaction with polyelectrolytes, the proteins (PATIL et al., 2010).

Gelling/emulsification is applied in various fields such as: pharmaceutical, medical and agronomic. In the food sector it is considered promising and several studies have been carried out (LAM and GAMBARI, 2014).

A study carried out the microencapsulation by external ionic gelation associated with the electrostatic interaction of the dye extracted from the buriti pulp, using the alginate coating materials: whey proteins (WPC) and pectin: whey proteins (WPC). The gelation process was effective in the encapsulation of buriti oil, although the alginate: WPC particles presented a more regular shape and a smoother surface when compared to those of pectin: WPC, which showed more rough surfaces and elongated forms (ARANHA, 2015).

Silva (2016) produced alginate and gelatin microgels by ionic gelation to protect probiotics (*Lactobacillus acidophilus*) and also evaluated the influence of the addition of Fructooligosaccharides (FOS) on the encapsulation matrix. The study revealed that microgels were efficient against the protection of microorganisms, the survival and viability of probiotics during the microencapsulation process, resistance to digestive fluids by in vitro simulation and stability to storage under controlled conditions.

Rocha (2017) produced microparticles containing tomato juice via external ionic gelation in order to evaluate the combination of carrier materials (inulin and maltodextrin together with sodium alginate). Through the results, it was concluded that the wall material, alginate and inulin provided better protection over time, demonstrating the possibility of producing alginate microparticles containing tomato juice.

Liposomes:

Liposomes have one or more concentric layers of lipids, usually phospholipids, forming microscopic vesicles, which provide a barrier to diffusion of the solute (SAKATA et al., 2007). These vesicles may encapsulate hydrophobic, hydrophilic and amphiphilic materials, depending on their lipid composition. Liposomes have received a reputation for their potential application as a coating of drugs (including bioactive macromolecules). Recently, the use of liposomes by the food industry has been proposed, especially for the encapsulation or immobilization of enzymes (JUVERIYA et al., 2016).

The use of liposomes as a way of controlled release of flavorings, pigments and natural active agents through the liposomes is considered a promising alternative because of its protection capacity, against several conditions associated with the food matrices and elaboration processes involved, besides to increase the availability and bioactivity of these compounds (CHAPAL, 2017).

Several studies have reported the importance of using liposomes as a food encapsulation technique, with the encapsulation of ascorbic acid and tocopherol that were loaded into liposomes and then incorporated into apple juice, orange juice and dairy products improving its bioactivity (MARSANASCO et al., 2011; WECHTERSBAACH et al., 2012).

The encapsulation of fish oil in a liposomal system by the ethanol injection method inhibited some undesirable attributes of this compound (such as odor), resulting in a high-omega-3 food supplement (AMNUAIKIT et al., 2016).

The inclusion of quercetin in liposomes made from soybean phospholipids and coated with Isolated Whey Protein (WPI) was evaluated for application in a functional milk beverage, revealing that the coated liposomes allowed to mask the undesirable sensory characteristics of the active compound in addition, the coating allowed a greater stability of the liposomes by protecting them from the osmotic forces arising from the significant amounts of sugars and salts present in the beverage, preserving the stability under refrigeration temperature in the course of three months (FRENZEL and STEFFEN-HEINS, 2015).

The encapsulation of polyphenols obtained from grape seed extract in chitosan-coated liposomes provided greater control in the release of polyphenols, retaining their bioactivity for a prolonged period when compared to the encapsulation in simple liposomes and with the free compound, these liposomes originated a system with greater stability, which allowed its use in food of high water content (GIBIS et al., 2016).

Liolios et al. (2009) evaluated the antioxidant capacity, antimicrobial activity (on Gram negative and positive bacteria) and pathogenicity against *Listeria monocytogenes* (present in some foods) of a liposomal system based on phosphatidylcholine of carvacrol and thymol (compounds obtained from the essential oil of *Origanum dictamnus* L.). The results showed higher antioxidant capacity and antimicrobial activity of these encapsulated compounds when compared to their pure form. It should be noted that thymol was a more potent antimicrobial than carvacrol against most of the microorganisms tested. The same result was obtained with the use of clove essential oil encapsulated in liposomes made from soy lecithin and cholesterol. This system improved the chemical stability of the essential oil, thus increasing its antimicrobial action time against *Staphylococcus aureus* in tofu (CUI et al., 2015). These results contribute to the promising use of this type of compound as a preservative in the food industry (CHAPAL, 2017).

Molecular inclusion – cyclodextrins:

This process occurs at the molecular level, unlike the other described techniques, generally using the cyclodextrins (CD) as encapsulating material. The CD are cyclic carbohydrates consisting of 6 (α -CD), 7 (β -CD), 8 (γ -CD) or more α - (1,4) linked glycopyranic units. In general, this technique is used to encapsulate compounds like vitamins, aromas, essential oils, dyes, among others (MARTIN DEL VALLE, 2004; BRASILEIRO, 2011). The oligosaccharide commonly used in these complexes is β -cyclodextrin, which in turn acts as a molecular capsule, with a polar outer surface and an apolar cavity, which makes it capable of playing the role of "host molecule", forming inclusion complexes with large variety of low polarity "guest molecules" (MARTIN DEL VALLE, 2004).

Molecular encapsulation is based on the substitution of water molecules that have high enthalpy, by smaller enthalpy molecules. It is an energetically viable process, because it allows the favorable alteration of enthalpy, increase of entropy and reduction of the total energy of the system, factors that favor the increase of the stability of the formed complex. Other factors that also contribute to the formation and stabilization of inclusion complexes are: Van der Waals electrostatic interactions, hydrophobic interactions and hydrogen bonds (LYRA et al., 2010; EVANGELISTA, 2010). The inclusion in CD directly influences the characteristics of the guest molecules, among them: increased solubility, increased oxidative stability, stabilization of emulsions, control of volatility and control of the release of flavors (DEL VALLE, 2004).

The technique does not require the use of specific equipment of high cost, in contrast, a limiting factor is the high economic value of CDs (POTHAKAMURY, 1995; AZEREDO, 2005).

Studies have shown that CD not only masks the taste of essential oils to be used as antimicrobial agents, but also protects against the oxidation triggered by high temperatures, which allows the use of these oils, preserving their effectiveness as an antimicrobial agent in a wide variety of environmental conditions and for long periods of time (DUCHÊNE, 1987; SZEJTLI, 1998).

According to Szente and Szejtli (1986), the molecular inclusion in β -CD was efficient in reducing the loss of coffee volatiles. Mاتيoli and Rodriguez-Amaya (2003), when encapsulating a pigment (lycopene), found that the higher the ratio of γ -CD, the greater the color intensity of the final product. And even in the presence of light, the stability of the complex was considered excellent.

Lying, Passos and Fontana, (2005) carried out a study in order to form an inclusion complex between β -cyclodextrin and bixin (carotenoid) and to define its stability under different established conditions. The results evidenced that the pure bixin extract lost 26% of the color being protected from light and in contact with oxygen for six weeks, while the encapsulated sample obtained a reduction of only 1.4%, which allowed greater protection of the pigment.

Kuck (2016) microencapsulated polyphenols extracted from the bark of the Isabel and Bordô grapes, using different wall materials. The extracts were submitted to atomization to obtain the microparticles, using gum arabic, β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin as encapsulating agents, combined in maximum concentrations of 5%. The results showed that the treatment prepared with 3% gum arabic and 2% β -cyclodextrin was considered the best, with a higher retention of flavonoids (67.2%), showing that the inclusion complexes present good retention capacity volatile agent.

Conclusions:-

The technology of microencapsulation of food ingredients and other substances has been shown to be highly employable, since it is an effective strategy and of great relevance in the conservation of various nutritional components, microorganisms, enzymes, colorants, flavorings, sweeteners, among others, protecting them from degradation and increasing stability, due to its advantageous characteristics which consequently results in products with superior quality. Thus, it can be considered that microencapsulation has a high potential to expand the market for high value-added products, producing foods that are not only a source of nutrients with sensory appeal, but also a means of well-being and health for consumers.

References:-

1. Albini, I. T. Solubilidade do biopolímero plc em solventes para aplicação no processo de microencapsulação. 2012.88f. Dissertação (mestrado em engenharia de alimentos), Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2012.
2. Alvim, I. D.; Grosso, C. R. F. Microparticles obtained by complex coacervation: influence of the type of reticulation and the drying process on the release of the core material. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v. 30, n. 4, p. 1069-1076, 2010.
3. Amnuakitt, T. Formulation development and preparation of fish oil liposome by using high pressure homogenizer for food supplement product. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, v.11, p.126-127, 2016.
4. Anal, A. K.; Singh, H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in food science & technology*, v. 18, n. 5, p. 240-251, 2007.
5. Anconi, C.P.A.; Nascimento Jr, C.S.; de Almeida, W.B.; dos Santos, H.F. Theoretical study of covalently bound α -cyclodextrin associations. *The journal of physical chemistry*, v. 116, p.18958-18964, 2012.
6. Anson, R. Microencapsulation: for enhanced textile performance. *Performance apparel markets*, v.12, p.21-39, 2005.
7. Aranha, C. P. M. Microencapsulação por gelificação iônica e interação eletrostática do corante de buriti (*Mauritia flexuosa* L. F.). 2015. 177 f. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São José do Rio Preto, 2015.
8. Augustin, M. A.; Hemar, Y. Nano and microstructured assemblies for encapsulation of food ingredients. *Chem. Soc. Rev.*, v. 38, p. 902–912, 2009.
9. Augustin, M.A.; Sanguansri, L.; Margetts, C.; Young, B. Microencapsulation of food ingredients. *Food Australia*, v.53, n.6, p.220-223, 2001.
10. Azeredo, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. *Alimentos e nutrição*, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.
11. Barreto, B. N. Obtenção e caracterização de microcápsulas de óleo vegetal por gelificação do sistema quitosana/tripolifosfato de sódio. 2008.101f. Dissertação (ciência e tecnologia de polímeros) - Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.
12. Benali, M.; Gerbaud, V.; Hemad, M. Effect of operating conditions and physicochemical properties on the wet granulation kinetics in high shear mixer. *Power technology*, v. 190, n. 1-2, p. 160-169, 2009.
13. Benelli, L.; Cortés-Rojas, D.F.; Souza, C.R.F.; Oliveira, W.P. Fluid bed drying and agglomeration of phytopharmaceutical compositions. *Powder technology*, v. 273, p. 145-153, 2015.
14. Boss, E.A. Modelagem e otimização do processo de liofilização: aplicação para leite desnatado e café solúvel. 2004.107f. Tese (doutorado em engenharia química)- Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP, Campinas, 2004.
15. Brasileiro, J.S.L. Microencapsulação de compostos bioativos: inovação em diferentes áreas. 2011. 71f. Dissertação (mestrado integrado em ciências farmacêuticas)- Faculdade de Ciências da Saúde. Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2011.
16. Burey, P.; Bhandari, B.R.; Howes, T.; Gidley, M.J. Hydrocolloid gel particles: formation, characterization, and application. *Critical reviews in food science and nutrition*, v. 48, n. 5, p. 361-377, 2008.
17. Cardoso, F. S. N.; Grosso, C. R. F.; Vitali, A. Microcápsulas de amido obtidas através da secagem por atomização e recobertas em leite fluidizado. *Brazilian journal of food technology*, Campinas, v. 4, n. 69, p. 131-136, 2001.
18. Carmo, E. L. D.; Fernandes, R. V. D. B.; Barros, R. V.; Borges, S. V. Encapsulação por *spray drying*, novos biopolímeros e aplicações na tecnologia de alimentos. *Journal of chemical engineering and chemistry*, v. 1, n. 2, p. 30-44, 2015.
19. Carmona, P. A. O. Secagem por atomização e microencapsulação de óleo de laranja: estudo das propriedades da emulsão e do tipo de material de parede sobre as características do pó e a estabilidade de d-limoneno. 2011. 176f. Dissertação (mestrado em engenharia de alimentos) - Faculdade de Engenharia dos Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.
20. Carneiro, H. C. F. Microencapsulação de óleo de linhaça por *spray drying*: influência da utilização de diferentes combinações de materiais de parede. 2011.113f. Dissertação (mestrado em engenharia dos alimentos) – Faculdade de Engenharia dos Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.
21. Carvalho, J. S. R. Encapsulamento de óleo essencial de *Origanum virens* L. Em matrizes de gelatina e gelatina/sacarose. 2009.90f. Dissertação (mestrado em engenharia alimentar) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.
22. Chan, I. W.; Lee, H. Y.; Heng, P. W.S. Mechanisms of external and internal gelation and their impact on the functions of alginate as a coat and delivery system, carbohydrate polymers, v.63, n.2, p.176-187, 2006.

23. Chapal, j.c.a. desenvolvimento e caracterização de um sistema lipossomal para a encapsulação de eugenol. 2017.44f. Dissertação (mestrado em ciência e tecnologia de alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2017.
24. Chávarri, m.; marañón, i.; villarán, m. C. Encapsulation technology to protect probiotic bacteria. Intechopen, p. 1-41, 2012. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/books/probiotics/encapsulation-technology-to-protect-probiotic-bacteria>>. Acesso em 24 de novembro de 2018.
25. Chew, s. C.; tan, c.p.; long, k.; nyam, k.l. in-vitro evaluation of kenaf seed oil in chitosan coated-high methoxylpectin-alginate microcapsules. Industrial crops and products, v. 76, p. 230-236, 2015.
26. Cho, y.h., shim, h.k., park, j. Encapsulation of fish oil by an enzymatic gelation process using transglutaminase cross-linked proteins, journal of food science, v. 68, p. 2717-2723, 2006.
27. Comunian, t. A.; thomazini, m.; alves, a.j.g.; matos junior, f.e.; balieiro, j.c.c.; favaro-trindade, c.s. Microencapsulation of ascorbic acid by complex coacervation: protection and controlled release. Food research international, v. 52, p. 373-379, 2013.
28. Coman, m. M.; cecchini, c.; verdelli, m. C.; silvi, s.; orpianesi, c.; cresci, a. Functional foods as carriers for synbio®, a probiotic bacteria combination. International journal of food microbiology, v. 157, n. 3, p. 346-352, 2012.
29. Cui, h.; zhao, ch.; lin, l. The specific antibacterial activity of liposome Encapsulated clove oil and its application in tofu. Food control, v.56, p.128-134, 2015.
30. Depypere, f.; verbeken, d.; thas, o.; dewettinck, k. Mixture design approach on the dynamic rheological and uniaxial compression behaviour of milk desserts. Food hydrocolloids, v. 17, n. 3, p. 311-320, 2003.
31. Del valle, e. M. M. Cyclodextrins and their uses: a review. Process biochemistry, v.39, n. 9, 2004. 1033-1046.
32. Desobry, s.a.; netto, f.m.; labuza, t.p. Comparison of spray-drying, drum-drying and freeze-drying for -carotene encapsulation and preservation. J. Food sci., v.62, n.6, p.1158-1162, 1997.
33. Dixit, r.; puthli, s. Fluidization technologies: aerodynamic principles and process engineering. Journal of pharmaceutical sciences, v. 98, n. 11, p. 3933-3960, 2009.
34. Duchêne, d. Cyclodextrin and their industrial uses. Paris: editions de santé, 1987.
35. Etchepare, m. A.; raddatz, g.c.; flores, e.m.m.; zepka, l.q.; jacob-lopes, e.; barin, j.s.; grosso, c.r.f.; menezes, c.r. Effect of resistant starch and chitosan on survival of lactobacillus acidophilus microencapsulated with sodium alginate. Food science and technology, v. 65, p. 511-517, 2016.
36. Evangelista, b.a.l. Caracterização, análise físico-química e estabilidade térmica do complexo de inclusão ciclodextrina-17- valerato de betametasona. 2010.110f. Dissertação (mestrado em fármaco e medicamentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
- Evangelista, j. Tecnologia de alimentos. 2ed. São paulo: atheneu, 2005.
37. Fang, z.; bhandari, b. Encapsulation of polyphenols - a review. Trends in food science & technology, v. 21, p. 510-523, 2010.
38. Farias, m. C.; moura, m. L.; andrade, l.; leão, m. H. M. R. Encapsulation of the alpha-tocopherol in a glassy food model matrix. Materials research. V. 10, n.1 p. 57-62, 2007.
39. Favaro-trindade, c. S.; pinho, S. C.; rocha, g. A. Revisão: microencapsulação de ingredientes alimentícios. Brazilian journal of food technology, v.11, p.103-112, 2008.
40. Favaro-trindade, c. S.; heinemann, r.j.b.; pedroso, d.l. Developments in probiotic encapsulation. Cab reviews: perspectives in agriculture, veterinary science. Nutrition and natural resources, v. 6. P. 1-8, 2011.
41. Felix, p. H. C. Microencapsulação de óleo essencial de canela por atomização com emprego de diferentes materiais de parede. 2014. 92f. Dissertação (mestrado em engenharia química) - Escola de Engenharia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2014.
42. Fernandes, r. V. B. Microencapsulamento de óleo essencial de alecrim (rosmarinus officinalis l.) Através de secagem por atomização. 2013. 134f. Dissertação (mestrado em ciências dos alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2013.
43. FIB (Food Ingredients Brasil). Microencapsulação – a tecnologia da microencapsulação de ingredientes, n.42, 2017. Disponível em: <http://revista-fi.com.br/upload_arquivos/201711/2017110261764001512044051.pdf>. Acesso em 21 de novembro de 2018.
44. Frascareli, e. C.; silva, v. M.; tonon, r. V.; hubinger, m. D. Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by *spray drying*. Food and bioproducts processing, v. 90, n. 3, p. 413-424, 2012.
45. Frascareli, e. C. Microencapsulação de óleo de café através de secagem por atomização: avaliação das propriedades da emulsão e do tipo de material de parede sobre as características do pó. 2010.181f. Dissertação

- (mestrado em engenharia dos alimentos) – Faculdade de Engenharia dos Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.
46. Frenzel, m. E steffen-heins, a. Whey protein coating increases bilayer rigidity and stability of liposomes in food-like matrices. Food chemistry, v.173, p.1090-1099, 2015.
 47. Garcia, l. C. Microencapsulação por *spray drying* de óleo essencial de manjerição. 2013. 2017f. Tese (doutorado em engenharia dos alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.
 48. Gharsallaoui, a.; roudaut, g.; chamin, o.; voilley, a.; saurel, r. Applications of secagem por spray in microencapsulation of food ingredients: an overview. Food research international, v. 40, n. 9, p. 1107-1121, 2007.
 49. Gibis, m.; ruedt, ch.; weiss, j. In vitro release of grape-seed polyphenols encapsulated from uncoated and chitosan-coated liposomes. Food research international, v. 88, p.105-113, 2016.
 50. Gonçalves, n. D. Encapsulação de óleo essencial de tomilho e avaliação como potencial ingrediente funcional tecnológico. 2016. 90f. Dissertação (mestrado em ciências da nutrição e do esporte e metabolismo) – Faculdade de Ciências Aplicadas, Universidade Estadual de Campinas, Limeira, 2016.
 51. Gouin, s. Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. Trends in food science & technology, v. 15, p. 330-347, 2004.
 52. Grosso, f. S. N. C. C.; vitali, a. A. Microcápsulas de amido obtidas através da secagem por atomização e recobertas em leite fluidizado. Brazilian journal food technology, n. 4, p. 131-136, 2001.
 53. Hammami, c.; rené, f. Determination of freeze-drying process variables for strawberries. Journal of food engineering, v.32, p.133-154, 1997.
 54. Helgerud, t.; gaserød, o.; fjæreide, t.; andersen, p.o.; larsen, c.k. Alginates. In: imeson, a. Food stabilisers, thickeners and gelling agents, p.50-72, 2009.
 55. Hemati, a.; cherif, r.; saleh, k.;pont, v. Fluidized bed coating and granulation: influence of processo-related variables and physicochemical properties on the growth kinetics. Powder technology, v. 130, n. 1-3, p. 18-34, 2003.
 56. Herculano, e. D. Óleo essencial de *eucalyptus staigeriana* nanoencapsulado para utilização como conservante em alimentos. 2014. 86f. Dissertação (mestrado em ciência e tecnologia de alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.
 57. Herrero, m.; cifuentes, a.; ibanez, e. Sub-and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae. A review. Food chemistry, v. 98, p. 136-148, 2006.
 58. Holkem, a.t.; codevilla, c. F.; menezes, c. R. Emulsificação/gelificação iônica interna: alternativa para microencapsulação de compostos bioativos. Ciência e natura, v.37, ed. Especial-nano e microencapsulação de compostos bioativos e probióticos em alimentos, p. 116-124, 2015.
 59. Jackson, l.s.; lee, k. Microencapsulation and food industry, lebensmittel-wissenschaftat technologie, v. 24, n.4, p. 289-297, 1991.
 60. Jain, n.k. Controlled and novel drug delivery. Delhi cbs, 406p, 2004.
 61. Jamekhorshid, a.; sadrameli, s. M.; farid, m. A review of microencapsulation methods of phase change materials (pcms) as a thermal energy storage (tes) médium. Renewable and sustainable energy reviews, v. 31, p. 531-542, 2014.
 62. Juveriya, f., fathima, i.; abhishek, v.; khanum, f. Phosphatidylcholine, an edible carrier for nanoencapsulation of unstable thiamine. Food chemistry, v.197, p.562-570, 2016.
 63. Kailasapathy, k.; masondole, l. Survival of free and microencapsulated lactobacillus acidophilus and bifidobacterium lactis and their effect on texture of feta cheese. Aust j dairy technol, v.60, n.3, p.252-258, 2005.
 64. Kent, r. M.; doherty, s. B. Probiotic bacteria in infant formula and follow-up formula: microencapsulation using milk and pea proteins to improve microbiological quality. Food research international, v. 64, p. 567-576, 2014.
 65. Krasaekoopt, w.; bhandari, b.; deeth, h. Review: evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. International dairy journal, v. 13, p. 3-13, 2003.
 66. Koroshi, e. T. Estudo do processo de liofilização: aplicação para suco de laranja. 2005. 156p. Dissertação (mestrado em engenharia química). Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
 67. Kuck, l.s. Microencapsulamento de compostos bioativos da uva (*vitis labrusca* l.) E efeito do tratamento pós-colheita com uv-c em uvas bordô. 2016. 106f. Tese (doutorado em ciência e tecnologia de alimentos) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.

68. Laine, p.; toppinen, e.; kivelä, r.; taavitsainen, v.; knuutila, o.; sontag-strohm, t.; jouppila, k.; loponen, j. Emulsion preparation with modified oat bran: optimization of the emulsification process for microencapsulation purposes. *Journal of food engineering*, v. 104, n. 4, p. 538-547, 2011.
69. Lam, p.l., gambari, r. Advanced progress of microencapsulation technologies: in vivo and in vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries, *journal of controlled release*, v. 178, p. 25-45, 2014.
70. Laurenti, e.; garcia, s. Eficiência de materiais encapsulantes naturais e comerciais na liberação controlada de probiótico encapsulado/efficiency of natural and commercial encapsulating materials in controlled release of encapsulated probiotics. *Brazilian journal of food technology*, v. 16, n. 2, p. 107, 2013.
71. Lee, g. H.; shin, m. G. Production of spherical granule from viscous red ginseng extracts for improving product fluency and preservation and its physicochemical properties. *Journal of food science*, v. 74, n. 9, p. 519-525, 2009.
72. Lemos, y. P. Microencapsulação de óleo de buriti por coacervação complexa em matrizes de gelatina/alginato. 2017. 77p. Dissertação (mestrado em engenharia e ciência de alimentos) – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2017.
73. Lévic, s.; lijaković, i.p.; dorđević, v.; rac, v.; rakić, v.; knudsen, t.s.; pavlović, v.; bugarski, b.; nedović, v. Characterization of sodium alginate/d-limonene emulsions and respective calcium alginate/d-limonene beads produced by electrostatic extrusion. *Food hydrocolloids*, v. 45, p. 111-123, 2015.
74. Liolios, c.c.; gortzi, o.; lalas, s.; tsaknis, j.; chinou, i. Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *origanum dictamnus* L. And in vitro antimicrobial activity. *Food chemistry*, v.112, p.77-83, 2009.
75. Lupo, b.; maestro, a. Porras, m.; gutierrez, j.m.; gonzález, c. Preparation of alginate microspheres by emulsification/internal gelation to encapsulate cocoa polyphenols, *food hydrocolloids*, 38, 56-65, 2014.
76. Lyng, s. M.; passos, m.; fontana, j. D. Bixin and α -cyclodextrin inclusion complex and stability tests. *Process biochemistry*, v. 40, n. 2, p. 865-872, 2005.
77. Lyra, m.a.m.; alves, l.d.s.; fontes, d.a.f.; soaressobrinho, j.l.; rolim-neto, p.j. Ferramentas analíticas aplicadas à caracterização de complexos de inclusão fármacociclodextrina. *Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada*, v.31, n.2, p.117-124, 2010.
78. Maia, j. L. Desenvolvimento de microcápsulas contendo as antocianinas presentes no corante do extrato do jambo por polimerização interfacial. 2013. 83f. Dissertação (mestrado em engenharia química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.
79. Marques, l.g. Liofilização de frutas tropicais. 2008. 293f. Tese (doutorado em engenharia química) - Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2008.
80. Marsanasco, m.; márquez, a.; wagner, j.; chiaramoni, n. Liposomes as vehicles for vitamins e and c: an alternative to fortify orange juice and offer vitamin c protection after heat treatment. *Food research international*, v.44, p. 3039-3046, 2011.
81. Martin del valle, e.m. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process biochem.*, v.39, n.9, p.1033- 1046, 2004.
82. Martín, j. M.; lara-villoslada, f.; ruiz, m.a.; morales, m.e. Microencapsulation of bacteria : a review of different technologies and their impact on the probiotic effects. *Innovative food science and emerging technologies*, v. 27, p. 15-25, 2015.
83. Matalanis, a.; jones, o.; mcclements, d. J. Structured biopolymer-based delivery systems for encapsulation, protection, and release of lipophilic compounds. *Food hydrocolloids*, v. 25, n. 8, p. 1865-1880, 2011.
84. Matioli, g.; rodriguez-amaya, d. B.; microencapsulação do licopeno com ciclodextrina. *Ciência e tecnologia de alimentos*, v.23, supl., p.102-105, 2003.
85. Mcclements, d. J. Theoretical analysis of factors affecting the formation and stability of multilayered colloidal dispersions. *Langmuir*, v. 21, n. 21, p. 9777-9785, 2005.
86. Mendanha, d. V.; ortiz, s.e.m.; favaro-trindade, c.s.; mauri, a.; monterrey-quintero, e.s.; thomazini, m. Microencapsulation of casein hydrolysate by complex coacervation with spi/ pectin. *Food res. Intern.* V. 42, p. 1099–1104, 2009.
87. Menezes, c. R.; barins, j.s.; chikoski, a.j.; zepka, l.q.; jacob-lobes, e.; fries, l.l.m.; terra, n.n. Microencapsulação de probióticos: avanços e perspectivas. *Ciência rural*, v. 43, n. 7, p. 1309-1316, 2013.
88. Mortazavian, a. M.; sohrabvandi, s. Probiotics and food probiotic products; based on dairy probiotic products. Tehran: eta publication, p. 54-155, 2006.
89. Murthy, z. V. P.; joshi, d. Fluidized bed drying of aonla (*emblica officinalis*). *Drying technology*, v. 25, n. 4-6, p. 883-889, 2007.
90. Mukai-corrêa, r.; prata, a.s.; alvim, i.d., grosso, c.r.f. Controlled release of protein from hydrocolloid gel microbeads before and after drying, *current drug delivery*, v. 1, n. 3, p. 265-273, 2004.

91. Müller, j. M.; santos, r. L.; brigido, r. V. Produção de alginato por microrganismos. *Polímeros*, v. 21, n. 4, p.305-310, 2011.
92. Murthy, z. V. P.; joshi, d. Fluidized bed drying of aonla (*emblica officinalis*). *Drying technology*, v. 25, n. 4-6, p. 883-889, 2007.
93. Nedovic, v.; kalusevic, a.; manojlovic, v.; levic, s.; bugarski, b. An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia food science*, v. 1, p. 1806-1815, 2011.
94. Nesterenko, a.; alric, i.; silvestre, f.; durrieu, v. Vegetable proteins in microencapsulation: a review of recent interventions and their effectiveness. *Industrial crops and products*, v. 42, p. 469-479, 2013.
95. O'donnell, p. B.; mcginitly, j. W. Preparation of microspheres by the solvent evaporation technique. *Advanced drug delivery reviews*, v.28, n.1, p.25-42, 1997.
96. Oliveira junior, g. R.; oliveira, g.r.; santos, j.t.s.; campos, a.f.p.; nunes, t.p.; russo, s.l. Prospecção tecnológica: processo de liofilização na indústria de alimentos. *Revista geintec*, v. 3, n. 1, p.92-102, 2012.
97. Orrego, a. C. E. Congelación y liofilización de alimentos. *Gobernación de caldas*, 172p, 2008. Disponível em <<http://www.bdigital.unal.edu.co/7837/1/9789584444363.pdf>>. Acesso em 25 de novembro de 2018.
98. Paglione, i. S. Produção e caracterização de filmes biodegradáveis de isolado proteico de soja contendo micropartículas de óleo essencial de orégano. 2018. 62f. Dissertação (mestrado profissionalizante em tecnologia de alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2018.
99. Pandit, v.; gorantla, r., devi, k., pai, r.s.; sarasija, s. Preparation and characterization of pioglitazone cyclodextrin inclusion complexes. *Journal of young pharmacists*, v.3, p. 267–274, 2011.
100. Parikh, d. M. Airflow in batch fluid-bed processing. *Pharmaceutical technology*, n. 15, v. 3, p. 100–110, 1991.
101. Park, d.; maga, j. A. Identificação de voláteis chave responsáveis pelas diferenças de qualidade de odor na pipoca estourada de híbridos selecionados. *Food chemistry*, v. 99, n. 3, p. 538-545, 2006.
102. Patil, j. S.; kamalapur, m. V.; marapur, s. C.; kadam, d. V. Ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation: the novel techniques to design hydrogel particulate sustained, modulated drug delivery system: a review. *Digest journal of nanomaterials and biostructures*, v. 5, n. 1, p. 241-248, 2010.
103. Paulo, b. B. Estratégias para produção de partículas lipídicas em leite fluidizado. 2017. 170f. Dissertação (mestrado em engenharia dos alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2017.
104. Pereda, j.a.o. Tecnologia de alimentos. Porto Alegre - rs: artmed, 2005.
105. Pereira, k.c.; ferreira, d.c.m.; alvarenga, g.f.; pereira, m.s.s.; barcelos, m.c.s.; da costa, j.m.g. Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização: revisão. *Braz. J food technol*, v. 21, 2018.
106. Pereira, t. Microencapsulação do óleo eugenol pelo método de *spray drying*. 2007. 47f. Trabalho de conclusão de curso (bacharel em química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.
107. Poncelet, d., babak, v., dulieu, c., picot, a. A physico-chemical approach to production of alginate beads by emulsification-internal ionotropic gelation, colloids and surfaces a: physicochemical and engineering aspects, v. 155, n. 2–3, p. 171-176, 1999.
108. Poncelet, d. Production of alginate beads by emulsification/internal gelation. *Ann n y acad sci*, v. 944, p.74-82, 2001.
109. Pothakamury, u.r.; barbosa-cánovas, g.v.fundamental aspects of controlled release in foods. *Trends food sci. Technol*, v.6, p.397-406, 1995.
110. Phisut, n. *Spray drying* technique of fruit juice powder: some factors influencing the properties of product. *International foodresearch journal*, v. 19, p. 1297-1306, 2012.
111. Rebello, f. F. P. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. *Revista agrogeoambiental*, v. 1, n. 3, p. 134-144, 2009.
112. Rocha, l.c.r. Desenvolvimento de micropartículas contendo suco de tomate via gelificação iônica. 2017.87f. Dissertação (mestrado em engenharia de biomateriais) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2017.
113. Rodríguez, j.; Martín, m. J.; Ruiz, m. A.; clares, b. Current encapsulation strategies for bioactive oils: from alimentary to pharmaceutical perspectives. *Food research international*, v. 83, p. 41-59, 2016.
114. Rosenberg, m.; young, s.l. Whey proteins as microencapsulating agents. *Microencapsulation of anhydrous milkfat-struture evaluation*. *Food structure*. Chicago, v. 12, n. 1, p. 31-41, 1993.
115. Rosen, r. M. Manual do sistema de entrega para cuidados pessoais e produtos cosméticos. Tecnologia, aplicações e formulações. Nova York: william andrew, 2006.

116. Sakata, s.; uchida, k.; kaetsu, i.; kita, y. Programming control of intelligent drug releases in response to single and binary environmental stimulation signal using sensor and electroresponsive hydrogel. *Radiation physics and chemistry*, v.76, p.733-737, 2007.
117. Saleh, k.; guigon, p. Coating and encapsulation process in powder technology. In: salman, a. D.; hounslow, m.j.; seville, j.p.k. *Granulation*, p.324-375, 2007.
118. Santos, a. B.; favaro-trindade, c.s.; grosso, c.r.f. Preparo e caracterização de microcápsulas de oleoresina de páprica obtidas por atomização. *Ciênc. Tecnol. Alimentos*, v. 25, n. 2, p. 322-326, 2005.
119. Santos, m. G.; bozza, f. T.; thomazini, m.; favaro-trindade, c. S. Microencapsulation of xylitol by double emulsion followed by complex coacervation. *Food chemistry*, v. 171, p. 32–39, 2015.
120. Sarkar, s.; gupta, s.; variyar, p. S.; sharma, a.; singhal, r. S. Irradiation depolymerized guar gum as partial replacement of gum arabic for microencapsulation of mint oil, carbohydrate polymers, v. 90, n. 4, p. 1685-1694, 2012.
121. Schoubben, a.; blasi, p.; giovagnoli, s.; rossi, c.; ricci, m. Development of a scalable procedure for fine calcium alginate particle preparation. *Chemical engineering journal*, v.160, n.1, p.363-369, 2010.
122. Silva, c. M.; ribeiro, a. J.; figueiredo, i. V.; gonçalves, a. R.; veiga, f. Alginate microspheres prepared by internal gelation: development and effect on insulin stability. *International journal of pharmaceutics*, v. 311, n. 1-2, p. 1-10, 2006.
123. Silva, k.c.g. Produção de microgéis simbióticos de gelatina-alginato e simulação da liberação controlada em condições gastrointestinais. 2016. 110f. Dissertação (mestrado em engenharia de alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016.
124. Silva, p. T.; fries, l. L. M.; menezes, c. R.; holkem, a. T.; schwan, c. L.; wigmann, e. F.; bastos, j. O.; silva, c. B. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. *Ciência rural*, v. 44, n. 7, p. 1304-1311, 2014.
125. Silva, t. M.; rodrigues, l. Z.; nunes, g. L.; codevilla, c. F.; silva, c. D. B.; menezes, c. R. Encapsulation of bioactive compounds by complex coacervation. *Ciência e natureza*, v. 37, p. 56 – 64, 2015.
126. Smrdel, p.; bogataj, m.; zega, a.; planinšek, o.; mrhar, a. Shape optimization and characterization of polysaccharide beads prepared by ionotropic gelation. *Journal of microencapsulation*, v. 25, n. 2, p. 90-105, 2008.
127. Sobrinho, e. C. S.; farias, m. C. A microencapsulação na indústria alimentícia. *Infarma*, v. 24, p. 84-93, 2012.
128. Sohail, a.; turner, n.s.; coombes, a.; bostrom, t.; bhandari, b. Survivability of probiotics encapsulated in alginate gel microbeads using a novel impinging aerosols method. *International journal of food microbiology*, v.145, p. 162-168, 2011.
129. Snowman, j. W. Freeze dryers. In: baker, c. G. J. *Industrial drying of foods*, p.134-145, 1997.
130. Souza, v. B. Extração e encapsulação por coacervação complexa das proantocianidinas da canela (*cinnaomum zeylanicum blume*). 2016. 185f. Tese (doutorado em ciências) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2016.
131. Stojanovic, h.; belscaj-cvitanovic, a.; manojlovic, v.; komes, d.; nedovic, v.; bugarski, b. Encapsulation of thyme (*thymus serpyllum l.*) Aqueous extract in calcium alginate beads. *Journal of the science of food and agriculture*, v. 92, n.3, p. 685-696, 2012.
132. Suave, j.; dallagnol, e. C.; pezzin, a. P. T.; silva, d. A. K.; meier, m. M.; soldo, v. Microencapsulação: inovação em diferentes áreas. *Revista saúde e ambiente*, v.7, n.2, p.12-20, 2006.
133. Szejtli, j. Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chem. Rev.*, v.98, n.5, p.1743–1754, 1998.
134. Szente, l.; szejtli, j. Molecular encapsulation of natural and synthetic coffee flavor with -cyclodextrin. *J. Food sci.*, v.51, p.1024-1027, 1986.
135. Teixeira, v. F. T.; pereira, n. R.; waldman, w. R.; ávila, a. L. C. D.; pérez, v. H.; rodríguez, r. J. S. Ion exchange kinetics of magnetic alginate ferrogel beads produced by external gelation, carbohydrate polymers, v.111, p.198-205, 2014.
136. Tewes, f.; boury, f.; benoit, j. Biodegradable microspheres: advances in production technology. In: benita, s.; francis, t. *Microencapsulation: methods and industrial application*, v.2, 2006.
137. Toldrá, f.; reig, m. Inovações para carnes processadas mais saudáveis. *Tendências em ciência e tecnologia de alimentos*, v. 22, n. 9, p. 517-522, 2011.
138. Torres, j.a.; karel, m. Microbial stabilization of intermediate food surfaces. Iii. Effects of surface preservative concentration and surface ph control on microbial stability of an intermediate moisture cheese analog. *J. Food process. Pres.*, v.9, n.2, p.107-119, 1985.
139. Venkatesan, p.; manavalan, r.; valliappan, k. Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system. *J. Pharm. Sci. Res.*, v.1, n.4, p.26-35, 2009.

140. Vos, p., faas, m. M., spasojevic, m., sikkema, j. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components, international dairy journal, v. 20, n. 4, p. 292-302, 2010.
141. Wang, w.; waterhouse, g. I.; sun-waterhouse, d. Co-extrusion encapsulation of canola oil with alginate: effect of quercetin addition to oil core and pectin addition to alginate shell on oil stability. Food research international, v. 54, n.1, p. 837-851, 2013.
142. Wechtersbach, l.; poklarulrih, n.; cigic, b. Liposomal stabilization of ascorbic acid in model systems and in food matrices. Food science and technology, v.45, p.43-49, 2012.
143. Weiss, j.; takhistov, p.; mcclements, j. Functional materials in food nanotechnology. Journal of food science, v. 71, p. 107-116, n. 9, 2006.
144. Wong, s. W.; yu, b.; curran, p.; zhou, w. Characterising the release of flavour compounds from chewing gum through hs-spme analysis and mathematical modelling. Food chemistry, v. 114, n. 3, p. 852-858, 2009.
145. Yang, x.; gao, n.; hu, l.; li, j.; sun, y. Development and evaluation of novel microcapsules containing poppy-seed oil using complex coacervation. Journal of food engineering, v. 161, p. 87-93, 2015.
146. Fukumori, y.; ichikawa, h. Fluid bed processes for forming functional particles. Encyclopedia of pharmaceutical technology, v.3, p. 1773-1778, 2007. Disponível em: <<http://www.gmpua.com/process/encyclopediapt.pdf>>. Acesso em 27 de novembro de 2018.
147. Zandi, m.; dardmeh, n.; pirsa, s.; almasi, h. Identification of cardamom encapsulated alginate-whey protein concentrates microcapsule release kinetics and mechanism during storage, stew process and oral consumption. Journal of food processing engineering, v. 40, p. 1-11, 2015.
148. Zhang, h.; tumarkin, e.; sullan, r. M. A.; walker, g. C.; kumacheva, e. Exploring microfluidic routes to microgels of biological polymers. Macromolecular rapid communications, v. 28, n. 5, p. 527-538, 2007.

6 ARTIGO 3

**Artigo Publicado na revista: Brazilian Journal of Development
(ISSN: 2525-8761)**

Aspectos do queijo de coalho com ênfase na importância das Boas Práticas de Fabricação no sistema de produção

Aspects of coalho type cheese with emphasis on the importance of Good Manufacturing Practices in the production system

Recebimento dos originais: 25/10/2018

Aceitação para publicação: 23/11/2018

Dayane de Melo Barros

Estudante de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil

E-mail: dayane.mb@hotmail.com

Erilane de Castro Lima Machado

Professora Doutora do Departamento de Nutrição

Instituição: Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco

Endereço: R. Alto do Reservatório, S/n - Bela Vista, Vitória de Santo Antão - PE, Brasil

E-mail: erilanevet@hotmail.com

Danielle Feijó de Moura

Estudante de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil

E-mail: danielle.feijo@hotmail.com

Roberta Albuquerque Bento da Fonte

Professora Doutora do Departamento de Nutrição

Instituição: Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco

Endereço: R. Alto do Reservatório, S/n - Bela Vista, Vitória de Santo Antão - PE, Brasil

E-mail: robertabentonutricionista@hotmail.com

Silvio Assis de Oliveira Ferreira

Estudante de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil

E-mail: assis_silvio@yahoo.com.br

Ranilson de Souza Bezerra

Professor Doutor do Departamento de Ciências Biológicas

Instituição: Universidade Federal de Pernambuco

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, Brasil

E-mail: ransoube@uol.com.br

RESUMO

O queijo de coalho é um produto típico do Nordeste e bastante consumido pela população regional, exercendo influência de âmbito cultural, social e econômico. Este alimento tem a maioria da sua produção realizada de forma artesanal em áreas rurais de pequeno porte ou de agricultura de base familiar, sendo sua imagem atrelada a um produto de baixa qualidade microbiológica devido a sua produção ser comumente baseada na utilização de matéria-prima *in natura* e na ausência de práticas

adequadas de fabricação. Vários estudos indicam a presença de contaminação por bactérias no queijo de coalho, tais como: *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, podendo estes microrganismos causar riscos para a saúde humana. Sendo assim, a aplicação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) é de fundamental importância para manter a qualidade do queijo de coalho mantendo-o seguro quanto ao padrão de inocuidade regulamentado. Dessa forma, objetivou-se com este estudo identificar evidências disponíveis acerca dos aspectos do queijo de coalho com ênfase na importância das Boas Práticas de Fabricação no sistema de produção. Para tanto, realizou-se um levantamento bibliográfico descritivo e qualitativo utilizando: legislações, artigos completos, monografias, dissertações, teses e site institucional publicados nos idiomas, português, inglês e espanhol, com dimensão temporal entre 1996 e 2016. Verificou-se que a maior parte da produção do queijo de coalho é realizada de forma artesanal ou por empreendimentos de médio e pequeno porte, ambientes estes, que possuem importante resistência dos produtores quanto a procedimentos adequados e legítimos de elaboração do alimento, tornando consequentemente, grande parte do queijo de coalho susceptível a contaminação microbiológica devido à ausência de práticas higiênico-sanitárias nestes ambientes de produção, o que indica a necessidade da aplicação das BPF a fim de, adequar o sistema produtivo deste derivado lácteo, visto que, diversos estudos demonstraram que as realizações dos requisitos das BPF trazem uma sensibilização, aperfeiçoamento e conhecimento dos proprietários de queijarias e seus colaboradores, além de melhorar as condições de produção, processamento e comercialização, agregando valor substancial ao laticínio além de, garantir um alimento seguro para o consumo humano no que tange aos aspectos nutricionais e microbiológicos.

Palavras-chave: contaminação, laticínios, produção, qualidade, segurança alimentar.

ABSTRACT

The coalho type cheese is a typical product of the Northeast and is quite consumed by the regional population, exerting influence of cultural, social and economic scope. This food is mostly handcrafted in small rural areas or family-based agriculture, and its image is linked to a product of low microbiological quality because its production is commonly based on the use of raw materials in the absence of proper manufacturing practices. Several studies indicate the presence of bacterial contamination in coalho type cheese, such as: *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, and these microorganisms can cause risks to human health. Therefore, the application of Good Manufacturing Practices (GMP) is of fundamental importance to maintain the quality of coalho type cheese, keeping it safe in relation to the regulated standard of safety. Thus, this study aimed to identify available evidence on the aspects of coalho type cheese with emphasis on the importance of Good Manufacturing Practices in the production system. To do so, a descriptive and qualitative bibliographic survey was carried out using: legislations, complete articles, monographs, dissertations, theses and institutional website published in portuguese, english and spanish, with a temporal dimension between 1996 and 2016. It was verified that most of the production of the coalho type cheese is carried out artisanal or by means of small and medium enterprises, which environments have important resistance of the producers regarding adequate and legitimate procedures of elaboration of the food, consequently making a large part of the curd cheese susceptible the microbiological contamination due to the absence of hygienic-sanitary practices in these production environments, which indicates the need of the application of the GMP in order to adjust the production system of this dairy derivative, since several studies have demonstrated that the accomplishment of the GMP requirements awareness, improvement and and to improve the conditions of production, processing and commercialization, adding substantial value to the dairy as well as guaranteeing a safe food for human consumption with regard to nutritional and microbiological aspects.

Key words: contamination, dairy, production, quality, food safety.

1 INTRODUÇÃO

O queijo de coalho é um dos produtos típicos mais comercializados no Nordeste brasileiro e devido a sua grande popularidade é consumido amplamente pela população regional. Este alimento é considerado um componente alimentar cultural com técnica de produção transmitida de geração em geração, estando integrado ao dia-a-dia dos nordestinos, além disso, representa uma importante fonte de renda familiar para os produtores deste laticínio (BALLESTEROS et al., 2006 e CARVALHO, 2007).

A produção de queijo de coalho é principalmente realizada por médias e pequenas queijarias da agricultura de base familiar ou de propriedades rurais de menor porte, e é atribuído valor substancial a esta atividade no que diz respeito à esfera local econômica e social (NASSU, MACEDO e LIMA, 2006 e MENEZES, et al., 2012).

Embora, seja parte do cotidiano da população local, o queijo de coalho ainda é visto como de baixa qualidade sob o ponto de vista microbiológico por não oferecer as condições higiênico-sanitárias adequadas para a saúde do consumidor, isto se deve a implicações relacionadas à ausência de critérios para a seleção qualitativa da matéria-prima e a falta de conformidades no que se refere às técnicas de fabricação do produto alimentício (DUARTE et al., 2005 e NASSU, MACEDO e LIMA, 2006).

A maior parte da produção de queijo de coalho (85%) é realizada com matéria-prima *in natura* (leite cru) apesar de ser recomendado no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de queijo de coalho, que o leite deve ser submetido a processos mecânicos apropriados e tratamento térmico ou pasteurização. Podendo-se evidenciar que, a matéria-prima utilizada para a produção do queijo não atende as normas de higienização e sanitização vigentes (BRASIL, 2001; DANTAS, 2012).

No que diz respeito às técnicas de processamento, o queijo de coalho apresenta-se como um produto de intensa manipulação durante o processo de fabricação, desprovido das condições higiênicas necessárias, ademais, há não conformidades em relação às condições sanitárias de transporte e armazenamento, tornando-se dessa forma, um potente veículo de contaminantes, o que expõe consequentemente a sociedade a possíveis Doenças Veiculadas por Alimentos - DVAs, repercutindo no âmbito de saúde pública (DUARTE et al., 2005 e OPAS, 2009).

Estudos indicam elevado número de infecções causadas em indivíduos, decorrente do consumo de queijos. A incidência de *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* e *Escherichia Coli* em queijo de coalho é significativa e tem sido relatada em diversas pesquisas científicas (BORGES et al., 2003; FEITOSA et al., 2003; LIMA, 2005 e PINTADO et al., 2008).

Geralmente, as fontes relacionadas ao surgimento desses microrganismos patogênicos são: leite cru, leite pasteurizado de forma inadequada ou contaminação pós-pasteurização com

microrganismos oriundos do leite cru ou do ambiente de produção e isto se deve ao fato de existirem falhas quanto ao emprego das Boas Práticas de Fabricação - BPF (PINTADO et al., 2008 e BORGES, et al., 2008).

Diante disso, objetivou-se com este estudo identificar evidências disponíveis sobre os aspectos do queijo de coalho com ênfase na importância das Boas Práticas de Fabricação no sistema de produção.

2 METODOLOGIA

Realizou-se um levantamento bibliográfico descritivo e qualitativo sobre importância das Boas Práticas de Fabricação (BPF) para a otimização do sistema de produção de queijo de coalho, utilizando: legislações, artigos completos, monografias, dissertações, teses e site institucional publicados nos idiomas, português, inglês e espanhol, com dimensão temporal entre 1996 e 2016. Os descritores utilizados foram: queijo de coalho, Boas Práticas de Fabricação e segurança alimentar.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 HISTÓRIA DO QUEIJO

O queijo é um dos alimentos mais antigos ao qual se têm registros (DANTAS, 2012). Apesar de não haver certeza da data de sua origem, acredita-se que este laticínio tenha surgido por algo em torno de 11.000 a.C (SEBRAE, 2008).

Foram observadas diversas interpretações embasadas na literatura a respeito da origem do queijo, que percorrem desde uma versão mitológica, uma das, menciona a descoberta do queijo por parte de um dos filhos de Apolo, rei da cidade de Arcádia, e a outra versão é baseada no fato de que, como o leite apresentava uma elevada perecibilidade por conta da ausência de meios para conservá-lo o mesmo, se transformava em coalho, o que despertou nos homens a ideia de criarem métodos para um melhor armazenamento do leite (SEBRAE, 2008 e ALBUQUERQUE, 2009).

No entanto, de uma maneira não intencional, um nômade observou que após armazenar o leite em um cantil elaborado a partir de couro de estômago seco de carneiro havia ocorrido à coagulação do leite. Então, independente de sua real origem, verifica-se que ao longo do tempo o queijo foi produzido como uma forma de preservação dos componentes nutritivos do leite. (SEBRAE, 2008 e ALBUQUERQUE, 2009).

No Brasil, o consumo de queijo iniciou-se com a chegada dos portugueses, que consumiam este produto em larga escala, tendo em vista, uma ampla diversidade de tipos de queijo produzidos com leite de cabra, que era bastante requerido por esta população (CASCUDO, 2004).

Com o decorrer do tempo, novas medidas de conservação do queijo foram sendo desenvolvidas a fim de, suprir as demandas sociais e atender aos mais variados e exigentes paladares, o que resulta hoje em dia, em uma diversidade de queijos difundidos no mercado mundial (BORGES et al., 2003 e DANTAS, 2012).

De acordo com a SEBRAE (2008), dentre os diversos tipos de queijo, destaca-se o queijo de coalho, uma iguaria da culinária nordestina. Este produto lácteo é de elevada aceitação comercial, além disso, possui propriedades nutricionais significativamente relevantes. Por agradar aos diversos paladares devido a seu sabor e consistência característicos, o queijo de coalho atualmente encontra-se como um dos mais importantes tipos de queijos comercializados no Brasil. Vale ressaltar, que tratando-se de um queijo de origem artesanal, o consumo deste laticínio representa a proteção de sua singularidade no âmbito histórico e cultural (PAQUEREAU et al., 2016).

3.2 QUEIJO DE COALHO

O queijo de coalho é considerado um derivado lácteo típico produzido na região Nordeste do Brasil. Conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de queijo de coalho, presente na Instrução Normativa nº 30, de 26/06/2001, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) entende-se por queijo coalho, “o queijo que se obtém por coagulação do leite por meio do 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 e SOUZA, 2015).

No estado de Pernambuco existe também uma legislação específica a qual estabelece a identidade e qualidade do queijo de coalho por meio da resolução nº 2 da Secretaria de Produção Rural e Reforma Agrária, definindo-o como “Produto artesanal ou não, no qual o queijo fresco é obtido do leite cru ou pasteurizado, integral ou desnatado, dessorado, maturado ou não, produzido em queijaria artesanal”, Nesta resolução estão determinados os requisitos básicos a serem aplicados na fabricação do queijo de coalho, artesanal ou não, fabricado no estado e colocado a disposição para o consumo da sociedade. (PERNAMBUCO, 1999).

O queijo de coalho de produção artesanal ou não, classifica-se em tipo A, onde sua produção é realizada com leite pasteurizado, integral ou desnatado, massa crua prensada, maturado; e queijo de coalho tipo B que é produzido com leite cru, integral ou desnatado, massa crua prensada ou não, e maturado (PERNAMBUCO, 1999).

Os aspectos físico-químicos e sensoriais do queijo de coalho (Tabela 1) apresentam-se descritos no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Coalho (BRASIL, 2001).

Tabela 1. Aspectos físico-químicos e sensoriais do queijo de coalho

Umidade	Média a alta umidade
Consistência	Semidura, elástica
Textura	Compacta, macia
Massa	Cozida ou semicozida
Cor	Branco amarelado uniforme
Sabor	Brando, ligeiramente ácido, podendo ser salgado
Odor	Ligeiramente ácido, lembrando massa coagulada
Crosta	Fina, sem trinca, não sendo usual a formação de casca bem definida
Olhaduras	Algumas olhaduras pequenas ou sem olhaduras
Formato e peso	Variáveis
Teor de gordura nos sólidos totais	Entre 35 % e 60 %

Fonte: BRASIL, 2001.

Ao longo dos anos, o queijo tem sido utilizado como um meio de preservação do leite, e apesar do procedimento elementar ser semelhante para a maioria, existem diferenças na origem do leite e nos métodos de processamento empregados para a produção do queijo de coalho (ANDRADE, 2006).

No Nordeste do Brasil, dentre os derivados lácteos, o queijo de coalho recebe grande notoriedade em todos os estados resultando em uma maior produção deste alimento quando comparado com outros derivados (MENEZES, 2011), uma vez que, o queijo de coalho é um alimento muito consumido nas suas mais diversas formas: natural, assada ou frita pela população regional, principalmente nos estados do Rio Grande do Norte, Pernambuco, Paraíba, e Ceará (MUNCK, 2004).

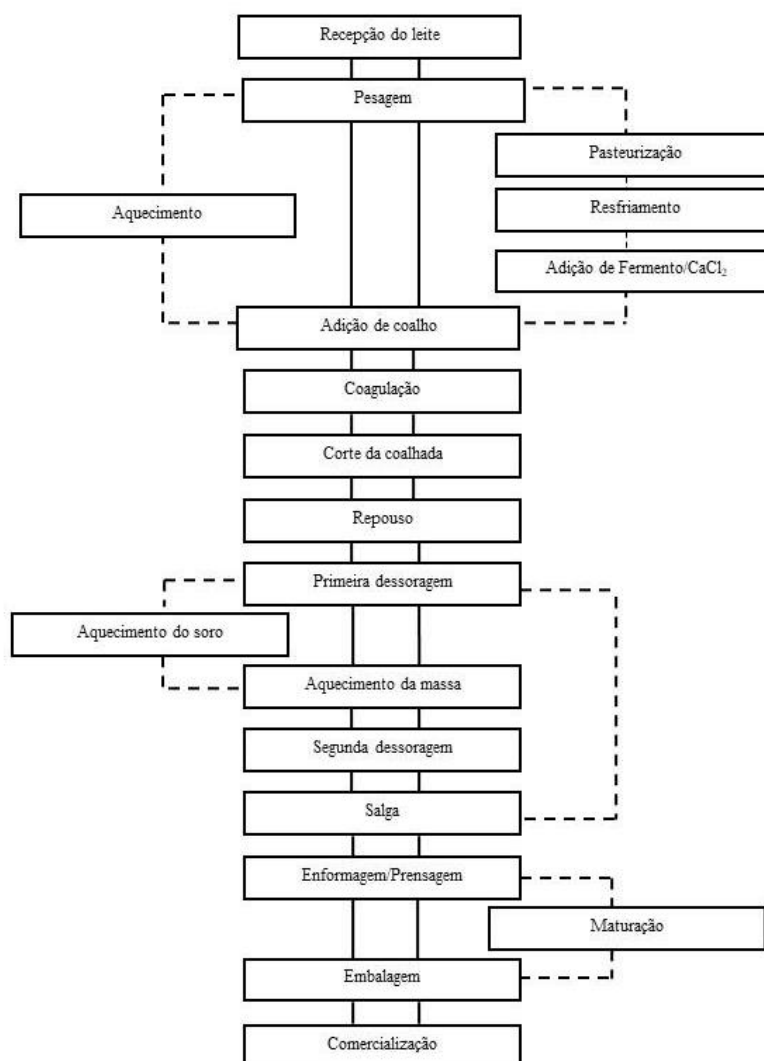
3.3 PROCESSO DE FABRICAÇÃO DO QUEIJO DE COALHO

O processo produtivo do queijo de coalho baseia-se na aplicação de tecnologias variadas, no entanto, a maior parte é produzida em escalas de produção de médio e pequeno porte. Também há a fabricação artesanal que utiliza técnicas tradicionais (PEREZ, 2005).

No Brasil, o processo de fabricação do queijo de coalho segue as normas estabelecidas pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de queijo de coalho presente na Instrução Normativa nº 30 (BRASIL, 2001). As etapas de processamento do queijo de coalho (de acordo com a figura 1) foram delineadas com base em um estudo sobre as condições de processamento de produtos regionais

derivados do leite no Ceará, um dos estados pertencentes ao Nordeste do Brasil (BRASIL, 2001, NASSU et al., 2001 e DANTAS 2012).

Figura 1- Fluxograma geral do processo de produção do queijo de coalho



Fonte: DANTAS, 2012.

Etapas de produção do queijo de coalho

As etapas condizentes ao processamento do queijo de coalho foram divididas em onze partes: Recepção do leite; Pasteurização; Adição do fermento, cloreto de cálcio e coalho; Coagulação; Corte da coalhada; Repouso; Primeira dessoragem; Aquecimento da massa; Segunda dessoragem; Salga; Enformagem/Prensagem; Maturação; Embalagem/Comercialização.

Recepção do leite

O leite utilizado para a preparação do queijo de coalho requer boa qualidade, e caso não seja recém-ordenhado, deve ser armazenado sob temperatura de refrigeração (até 12°C). O leite deve ser submetido à pesagem e filtragem antes de ocorrer o processamento, em equipamentos ou utensílios determinados para esta finalidade, a fim de, retirar casuais sujidades. No decurso da recepção do leite,

deve ser feita a padronização do teor de gordura entre 3,2 e 3,4% visto que a gordura apresenta papel relevante para as características organolépticas do produto lácteo. (NASSU, MACEDO e LIMA, 2006 e AQUARONE et al., 2001).

Pasteurização

O leite utilizado deve ser submetido à pasteurização para realizar a remoção dos microrganismos causadores de doenças. De acordo com a instrução normativa nº 62, o leite deve ser pasteurizado a uma temperatura de 72° a 75° C por 15 a 20 segundos. A legislação do Brasil preconiza o tratamento térmico para a produção de queijos de coalho que não passarão por um tempo de maturação superior a 60 dias. Posteriormente, o leite é resfriado sob temperatura de 32 a 35°C (BRASIL, 2001; NASSU, MACEDO e LIMA, 2006 e BRASIL, 2011).

Adição do fermento, cloreto de cálcio e coalho

A adição desses ingredientes deve ser realizada de forma que o coalho seja último item a ser adicionado. A adição de fermento ao leite tem como intenção causar o desenvolvimento do sabor e aroma do queijo no decorrer da cura e levar a uma discreta acidez do produto o que resultará na elevação da capacidade de coagulação do coalho e aperfeiçoará a textura do coágulo auxiliando na posterior dessoragem do queijo. O acrescentamento de cloreto de cálcio é utilizado para favorecer a coagulação, melhorando as características da coalhada além de complementar a quantidade de cálcio perdida na etapa de pasteurização promovendo a manutenção do rendimento do produto. A adição de coalho a mistura serve para iniciar a formação da massa do queijo de coalho devido ao desenvolvimento da coagulação enzimática (SILVA, 1996; AQUARONE et al., 2001; NASSU, MACEDO e LIMA, 2006 e FERREIRA, 2008).

Coagulação

A coagulação é importante para a fabricação do queijo, nela ocorrerá à formação da coalhada a partir do leite fluido. O leite deve ser colocado em repouso num tempo entre 40 a 60 minutos para a constituição da coalhada. A coalhada é formada através de mudanças físico-químicas provocada por ação enzimática ou acidificação nas micelas da principal proteína do leite (caseína). A ação enzimática é a mais utilizada para formação da coalhada sendo esta, obtida pela atividade de enzimas específicas conhecidas como coalho ou coagulantes. É conferida a denominação coalho, às enzimas oriundas de estômago de animais ruminante, porém a denominação coagulante corresponde a todas as outras enzimas utilizadas para o processo de coagulação, tais como, coagulantes vegetais e

coagulantes microbianos (ADAMS, 1997; FOX et al., 2000; PERRY, 2004; NASSU, MACEDO e LIMA, 2006 e FOODS INGREDIENTS BRASIL, 2011).

Corte da coalhada

Após a formação da coagulação é estabelecido o ponto de corte da coalhada (firme e brilhante), onde rompe-se a mesma com liras (utensílios constituídos por laminar ou fios cortantes) dispostas de forma paralela e com distância entre si iguais. Em seguida utilizar tanto a lira vertical quanto a horizontal, obtendo cubos com aresta de tamanhos entre 1,5 e 2,0 cm. Sabe-se que é de grande importância efetivar no momento correto o corte da coalhada (ponto de corte, pois for feito antes, por conta da natureza frágil do coágulo, acontecerá um rendimento reduzido, por causa da perda de gordura e proteínas e caso seja realizado depois do ponto de corte o coágulo se encontrará bastante rígido e dessa maneira dificultará a dessoragem, acarretando na formação de queijos com umidades variadas (SILVA, 1996; BORZANI et al., 2001; NASSU, MACEDO e LIMA, 2006 e BRASIL, 2011).

Repouso

Posteriormente ao corte dos cubos de queijo, é necessário deixá-los em repouso num tempo entre 3 a 5 minutos (NASSU, MACEDO e LIMA, 2006 e BRASIL, 2011).

Primeira dessoragem

Posteriormente, ocorre a mexedura, em um tempo de 10 a 20 minutos, aumentando ligeiramente a velocidade à medida que os grãos forem se agrupando, para evitar que os cubos se precipitem ou fundam-se e, logo após, permitir outro repouso até que toda a massa se deposite no fundo do recipiente. Mas, a fim de facilitar o aquecimento faz-se a primeira dessoragem onde remove-se uma parte do soro, fatores como: menor espessura do corte, pH reduzido, maior teor de proteínas, menor teor de gordura, presença de íons de cálcio, elevação da temperatura de cozimento e mexedura da coalhada durante o cozimento auxiliam no processo de dessoragem (NASSU, MACEDO e LIMA, 2006; PAULA, CARVALHO e FURTADO, 2009 e BRASIL, 2011).

Aquecimento da massa

A massa é aquecida até a temperatura de 45° a 55°C sob agitação constante para obtenção da consistência dos grãos. O ponto de massa (referente ao término do cozimento) pode ser estabelecido de modo subjetivo através da compressão de uma quantidade pequena da massa na mão, formando um aglomerado, em seguida este aglomerado é quebrado sob a pressão manual formando pequenos

grãos que desagregam facilmente, determinando que a massa encontra-se na consistência adequada (AQUARONE et al., 2001 e NASSU, MACEDO e LIMA, 2006).

Segunda dessoragem

Após o cozimento e verificação do ponto da massa (consistentes e brilhantes), realiza-se a segunda dessoragem, na qual remove-se todo o soro restante (NASSU, MACEDO e LIMA, 2006).

Salga

Nesta etapa é feita a adição de cloreto de sódio (dissolvido em soro) a massa em uma quantidade de 1 a 2% do volume de leite, com agitação constante para desagregar os grãos. Quando o queijo é produzido artesanalmente, o sal é colocado de modo direto na massa antes da enformagem. Adicionar o sal apropriado à massa misturando-o manualmente de maneira constante é importante para conseguir uma boa homogeneização e garantir com que os grãos de coalhada desagreguem-se (NASSU, MACEDO e LIMA, 2006 e SEBRAE, 2011).

Enformagem/ Prensagem

A massa é colocada em fôrmas cilíndricas ou retangulares, deixando-a moldada e compacta, levando a junção dos grãos de massa e remoção de todo o soro restante, garantindo a forma do queijo. Vale ressaltar que as fôrmas devem preferencialmente ser de material plástico, forradas com dessoradores, pois contribuem para evitar com que a massa do queijo não grude na parede do utensílio e auxilia retirada do soro entre os grãos. A prensagem deve ser feita em prensas coletivas ou individuais. O queijo deve ser virado depois de um tempo previamente estabelecido, tanto o tempo de prensagem como a quantidade de viragens podem diversifica-se de acordo com o fabricante e as atribuições almejadas para o queijo. (AQUARONE et al., 2001; NASSU, MACEDO e LIMA, 2006 e FERREIRA, 2008).

Maturação

A maturação proporciona o desenvolvimento de sabor, textura e aroma do queijo. Nessa fase, o queijo de coalho é mantido sob condições de temperatura de refrigeração (10 a 12°C) e umidade relativa do ar (75 a 80%) controlada, durante um período entre 5 a 10 dias, ao término desse tempo, o queijo de coalho pode ser permitido para consumo humano (NASSU, MACEDO e LIMA, 2006; CAVALCANTE et al., 2007 e PAULA, CARVALHO e FURTADO, 2009).

Embalagem e comercialização

Depois da maturação, os queijos devem ser acondicionados em embalagens plásticas e armazenados em câmara fria (10 a 12°C) para posterior distribuição e comercialização. Os rótulos na embalagem devem atender as instruções da Resolução da Diretoria Colegiada nº 259 (RDC 259) de 20 de setembro de 2002, a qual estabelece as normas indispensáveis para a rotulagem de alimentos (NASSU, MACEDO e LIMA, 2006 e FERREIRA, 2008).

No entanto, o processo de fabricação do queijo de coalho não é padronizado quanto à rotulagem, por se tratar de um alimento artesanal da cultura nordestina (ESCOBAR et al., 2001).

3.4 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO QUEIJO DE COALHO

A atividade de água (A_w), pH e a acidez são parâmetros importantes para estabelecer o tipo de degradação microbiana do alimento (RAHMAN et al., 2004). A A_w é determinada pela relação entre a pressão de vapor da água presente em um alimento (p) e a pressão do vapor da água pura (p_0), à mesma temperatura, expressando o teor de água livre no alimento. A A_w varia de 0 a 1 (ORDOÑEZ, 2005).

O queijo de coalho é um produto que geralmente possui elevado teor de umidade (BRASIL, 2001). De acordo com Freitas Filho e colaboradores (2009), a umidade é um fator de interferência na atividade de água do produto lácteo. A A_w do queijo de coalho é superior a 0,85 representando um valor de muita suscetibilidade a comprometimento microbiológico (ALZAMORA et al., 2003; ANDRADE, 2006 e SOUZA et al, 2014). No entanto, a presença de cloreto de sódio (sal) no alimento leva a uma diminuição da A_w inibindo o desenvolvimento de microrganismos de deterioração (BERESFORD et al., 2001).

O pH é um parâmetro que determina a concentração de H^+ nos alimentos (VIDAL, 2011). Segundo Gava (2009), os alimentos em geral, possuem pH entre 5,0 a 6,5, porém o leite apresenta pH correspondente a 6,8, valor este, para a limitação de vários tipos de microrganismos que podem desenvolver-se no alimento.

O queijo de coalho por sua vez tem pH considerado alto, sendo de 6,5 quando não há a utilização de fermento e 5,7 quando utiliza-se fermento, gerando condições viáveis para o crescimento de contaminação por bactérias (MUNCK, 2004). O queijo de coalho é determinado como um produto lácteo pouco ácido por possuir pH superior a 4,5 (GAVA, 2009).

Os dados sobre a A_w , acidez e pH do queijo de coalho são encontrados através da literatura uma vez que a legislação brasileira não preconiza valores de referência para estas análises (SOUZA et al., 2014).

3.5 IMPORTÂNCIA NUTRICIONAL DO QUEIJO DE COALHO

A matéria-prima do queijo de coalho isto é, o leite de vaca é considerado o alimento mais completo, apresentando alto valor biológico na alimentação humana (GUERREIRO et al., 2005).

Faz parte da composição do leite: água (87,3%) e os sólidos totais (12,7%), distribuídos da seguinte maneira: proteínas totais- 3,3 a 3,5%; gordura- 3,5 a 3,8%; lactose- 4,8%; minerais- 0,7% e vitaminas (SGARBIERI, 2005).

O queijo de coalho é um alimento rico em proteína e geralmente possui todos os aminoácidos essenciais, gordura, vitaminas (vitamina B₂ e vitamina A) e sais minerais (cálcio e fósforo), representando um alimento com estimado valor nutritivo. Sob o ponto de vista nutricional, a concentração alta de nutrientes presentes no queijo de coalho supõe certa vantagem em relação ao leite, haja em vista a quantidade de água ser mais alta (ANDRADE, 2006).

3.6 IMPORTÂNCIA DO QUEIJO DE COALHO NA SAÚDE PÚBLICA

O queijo de coalho por ser considerado um artefato cultural do Nordeste, torna-se um dos queijos mais produzidos e consumidos na região. A maior parte de sua produção é realizada nos estados nos do Ceará, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Paraíba (ALMEIDA, JÚNIOR e GUERRA, 2013). O queijo de coalho é largamente produzido nesta região por conta do seu processo de fabricação ser relativamente simples e por seu sabor característico, elevando sua expansão comercial de maneira significativa (DANTAS, 2012).

No entanto, a sua imagem ainda é muito relacionada com um alimento que não representa segurança microbiológica satisfatória, por apresentar problemas atrelados à matéria-prima que é desprovida das condições de higienização corretas e não apresentar conformidades no processo de fabricação, armazenamento e transporte e exposição do queijo de coalho predispõe este produto à contaminação, levando a queijos com qualidade reduzida além de deixar o consumidor susceptível a desenvolver surtos alimentares (DUARTE et al, 2005; PEIXOTO, PRAÇA e GÓIS, 2007 e DANTAS, 2012).

De modo a exemplificar este risco, a vigilância epidemiológica da Paraíba entre os períodos de 2004 e 2008, verificou 42 casos de surtos alimentares, envolvendo 481 enfermos do total de um grupo de pessoas expostas ao risco correspondente a 1266 pessoas. Destes surtos 23,8% estavam associados a queijos (cerca de 10 casos), acometendo 59 pessoas (12,26%) e expondo ao risco 184 pessoas (14,53%). Dos 10 episódios de surtos alimentares associando queijos, 90% aconteceram no interior de João pessoa por haver um maior consumo deste derivado lácteo e 10% na capital (OPAS, 2009).

Outro estudo realizado com 104 amostras de queijo de coalho comercializadas em seis estados de do nordeste do Brasil (Pernambuco, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Sergipe e Paraíba), sendo 54 amostras não inspecionadas e 50 amostras inspecionadas, verificou que todos os queijos analisados apresentavam-se fora das normas microbiológicas exigidas pela legislação vigente. Estes dados demonstram que o queijo de coalho torna-se impróprio para os consumidores deste produto, podendo desencadear graves riscos a saúde humana (SOUSA et al., 2014).

3.7 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E SOCIAL DO QUEIJO DE COALHO

A produção e comercialização do queijo de coalho são difundidas amplamente no Nordeste brasileiro principalmente na zona rural, possuindo um número significativo de produtores de pequeno porte que realizam o processamento do queijo de coalho. Essa atividade é muitas vezes praticada como meio de subsistência desses comerciantes (NASSU, MACEDO e LIMA 2006).

Cerca de 90% da fabricação de queijo de coalho artesanal é realizada por agricultores familiares sendo que esse tipo de produção, leva consigo, valores culturais, indenitários e simbólicos próprios. Na região Nordeste a produção de queijo movimenta a cada mês aproximadamente 10 milhões de reais. A produção deste derivado lácteo representa aproximadamente 9,2% do produto interno bruto do estado de Pernambuco. (PERRY, 2003; ARAÚJO et al., 2011 e SILVA et al., 2016).

Os agricultores familiares recebem incentivos do governo federal através de programas como PRONAF (Programa Nacional de Agricultura Familiar) e o PAA (Programa de Aquisição de Alimentos) e da Regulamentação do SUASA (Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária) que são importantes para o desenvolvimento rural, a fim de melhorarem a produção de alimentos como o queijo de coalho garantindo segurança alimentar para a população e viabilidade de comercialização do produto no mercado formal (BRASIL, 2006; DANTAS, 2012 e FERNANDES, 2013).

Estudos demonstraram que a fabricação e o comércio de vendas de queijos representam um empreendimento mais rentável do que a comercialização de leite *in natura*, o que pode gerar uma melhora nos lucros dos leiteiros, demonstrando que esta atividade é de relevante importância no âmbito econômico e social (BRITO, 2005 e LOPES e CARVALHO, 2006).

3.8 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS E CONTAMINANTES DO QUEIJO DE COALHO

A produção de queijo requer leites de excelente qualidade, no qual as contaminações por microrganismos não comprometam a segurança microbiológica que este alimento deve apresentar (SALINAS, 2002). Parâmetros associados a características físico-químicas, composição química e

condição higiênico-sanitária determinam a qualidade do leite. A composição nutricional tais como, como proteína, gordura, lactose, sais minerais e vitaminas estabelecem a qualidade da sua composição e a presença de microrganismos, que não participam da constituição natural láctea, define a qualidade higiênico-sanitária (DANTAS, 2012).

A qualidade do queijo de coalho está associada de forma direta com a qualidade de sua matéria-prima (o leite), diante disso o Ministério da Saúde (MS) preconiza os parâmetros microbiológicos por meio da Resolução da Diretoria Colegiada nº 12 para os alimentos e também adere à metodologia de análise da Association of Official Analytical Chemists (FDA/AOAC), estabelecendo que o queijo de coalho próprio para consumo humano é aquele o qual apresenta uma tolerância de 5×10^2 da amostra para *Estafilococos coagulase positiva* e *Coliformes* a 45°C além de ausência de *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes* (BRASIL, 2001 e DANTAS 2012).

Consta no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de queijos (Portaria DAS/MA de 07/03/1996) a admissão da produção de queijos sem tratamento térmico prévio, no entanto este produto precisa passar por uma etapa de maturação que dure no mínimo sessenta dias. No entanto, a maioria do queijo de coalho é produzida, com leite de vaca cru, este leite por sua vez é obtido sem os cuidados higiênicos adequados e também não são submetidos ao processo térmico necessário, comprometendo assim a qualidade do produto, tendo em vista a falta de qualquer tratamento que possa diminuir a quantidade de microrganismos presentes no queijo de coalho (BRASIL, 1996; GOMES et al., 2011; DANTAS, 2012 e FREITAS, TRAVASSOS, MACIEL 2013).

3.9 AUSÊNCIA DO USO DE BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO (BPF) NO PROCESSO DE PRODUÇÃO DO QUEIJO DE COALHO

Devido a maior parte do queijo de coalho produzido no Brasil ser oriunda de pequenas e médias queijarias, é comum que os pequenos produtores não possuam as tecnologias adequadas para a produção deste laticínio, o que os leva a enfrentarem problemáticas que atingem de forma direta o processo de produção, sendo estas: a qualidade precária do queijo de coalho pela ausência de práticas higiênico-sanitária; decorrente do processo de produção inadequado ocorre o comprometimento da qualidade e segurança alimentar, reduzindo o potencial mercadológico do produto, uma vez que o procedimento para produção do queijo não se encontra definido, ou seja, há uma falta de padronização dos queijos oferecidos ao comércio (PERRY, 2004 e ARAÚJO et al., 2011).

Vale salientar também, que os produtores de queijo de coalho apresentam certa resistência às novas técnicas de produção deste alimento, pois preferem seguir transmitindo o processo de produção herdado dos seus antepassados para elaborar o queijo de coalho caseiro, ou seja, fatores culturais acrescidos de praticidade na realização da atividade tornam os produtores de queijos propensos a

riscos de acidentes além de comprometer a qualidade do queijo para consumo (VIANA, 2008 e MENEZES, SILVA e SAMUEL, 2012).

Os equipamentos, utilizados para a produção de queijo são também alvo de atenção, devido à susceptibilidade de contaminação. De acordo com um levantamento realizado em algumas agroindústrias de base familiar ou empreendimentos de pequeno porte de produtores de queijo de coalho artesanal, foram verificados vários tipos de prensas como as de madeira, ferro, pedra e Canos de Policloreto de Vinila (PVC), o que evidencia uma baixa qualidade e ausência de condições higiênico-sanitárias adequadas dos equipamentos em uso (ARAÚJO et al., 2008 e VIANA, 2008).

Esta situação geralmente ocorre devido à maioria da produção do queijo de coalho ser de origem artesanal, podendo ser produzido de várias formas, sem a utilização de equipamentos padrão (principalmente os de alto custo) para a fabricação deste produto (GOMES et al., 2011; DANTAS, 2012 e ARAÚJO, et al., 2012).

Diante dessas problemáticas envolvendo o processo de produção do queijo de coalho, diversos estudos a respeito da qualidade microbiológica de queijo de coalho demonstraram a presença de microrganismos causadores de doenças e contagens de microrganismos deteriorantes de alimentos em quantitativo superior ao estabelecido pela legislação vigente. Entre os microrganismos patogênicos comumente encontrados sobressaem-se: *Enterococcus* spp, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (CAVALCANTE et al., 2007 e PORTO et al., 2016).

Diante dessa perspectiva torna-se imprescindível a aplicação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) a fim de melhorar a qualidade do processo de fabricação do queijo de coalho, garantindo um produto com segurança microbiológica e próprio para o consumo.

3.10 BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO (BPF) NO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE QUEIJO DE COALHO

As Boas Práticas de Fabricação (BPF) são as condições essenciais para a obtenção de produtos próprios para o consumo humano, não trazendo consequentemente riscos para a saúde do consumidor, ademais as BPF viabilizam um espaço de trabalho mais eficaz, otimizando o processo de produção de forma geral. Elas são fundamentais para o controle de prováveis meios de contaminação cruzada e para assegurar que o produto a ser ofertado corresponda às exigências de identidade e qualidade. O programa de BPF abrange as mais diversas características da unidade produtora de alimentos, que vão desde a qualidade da matéria-prima e dos ingredientes até as orientações de construção das instalações e de higiene (NASSU, MACEDO e LIMA, 2006).

Em 2004, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), aprovou o Regulamento Técnico das Boas Práticas para Serviços de Alimentação através da RDC N° 216. A falta de

cumprimento dessa Resolução caracteriza infração de natureza sanitária, de acordo com a Lei Federal de nº 6.437, de 20 de agosto de 1977 (DANTAS, 2012).

Para as empresas de produtos lácteos, as BPF são regulamentadas pela Portaria nº 368, de 4/9/97 e pela Resolução nº 10, de 22/5/2003, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1997 e BRASIL, 2003).

De acordo com NASSU, MACEDO e LIMA (2006), a unidade de produção deve apresentar um manual de BPF, devendo ser um documento específico da empresa, o qual apresente todas as informações em relação aos procedimentos a serem realizados pela agroindústria (Tabela 2).

Tabela 2. BPF a serem adotadas na unidade produtora de queijo de coalho

Instalações	• A unidade de produção deve estar localizada em ambiente isento de fumaça e poeira. A construção deve ser sólida, com espaço suficiente para a realização de todas as operações de forma que haja fluxo contínuo de produção, evitando a contaminação entre a matéria-prima e o produto acabado; • A água que entra em contato com o alimento deve ser apropriada para consumo humano; • O espaço de produção deve ser bem iluminado e ventilado; • Os banheiros não devem apresentar comunicação direta com a área de produção, • Piso da área de processamento- Piso resistente, de fácil lavagem, antiderrapante e apresentar declive de 1% a 2%, em direção aos drenos ou ralos telados ou tampados. • Piso externo- O piso externo deve apresentar superfície que facilite a limpeza; • Paredes e teto da sala de processamento- não podem apresentar falhas de revestimento e pintura. • Luminárias- Devem ter formato apropriado à proteção das lâmpadas na área de processamento, evitando que se quebrem.
--------------------	---

-
- **Esgotamento industrial**- Devem ser usados ralos sifonados com tampas escamoteáveis, em todas as instalações.
 - **Recepção do leite**- A recepção deve ser ampla, e a plataforma, quando existente, situada a uma altura compatível com a operação de descarga. Em áreas de descarregamento, o piso deve ser totalmente impermeável, com dreno e sem resíduos de leite.
-

Pessoal

- Os colaboradores da agroindústria devem receber treinamento periódico e constante sobre as práticas sanitárias de manipulação de alimentos e higiene pessoal, que fazem parte das BPF.

Procedimentos

- **Veículos transportadores** – Para o transporte da matéria-prima, é importante o uso de veículos refrigerados, os quais devem ter, rigorosamente, a temperatura correta antes do carregamento com o produto resfriado e devem conservar a temperatura requerida durante toda a distribuição.
- **Controle de estoque de matéria-prima** – Após o recebimento, a matéria-prima não deve ficar sem refrigeração por um longo período.
- **Controle de contaminação cruzada** – Não deve haver cruzamento de matéria-prima com o produto acabado, para que este último não seja contaminado com microrganismos típicos das matérias-primas, colocando a perder todo o processamento realizado.
- **Limpeza de ambientes** – Deve haver procedimentos específicos com frequência mínima diária para sanitização de áreas de processo (paredes, pisos, tetos), e semanal, para as câmaras de refrigeração, assim como de todo o ambiente da agroindústria.
- **Embalagem** – A operação de embalagem deve ser conduzida numa área separada daquela das operações com leite cru, devendo ser

completada o mais rápido possível, a fim de minimizar a exposição do produto à contaminação.

- | | |
|------------------------------|--|
| Armazenamento | <ul style="list-style-type: none"> • Ingredientes e embalagens devem ser armazenados em condições que evitem a sua deterioração e protegidos contra contaminação. |
| Controle de pragas | <ul style="list-style-type: none"> • Toda unidade de produção de queijo deve ter um programa eficaz e contínuo de controle de pragas. A unidade de processamento e as áreas circundantes devem ser inspecionadas periodicamente, de forma a diminuir ao mínimo os riscos de contaminação. |
| Registros e controles | <ul style="list-style-type: none"> • Cada procedimento descrito gera uma ou mais planilhas de registros das variáveis de produção. Esses registros são importantes para que o processamento seja rastreável a qualquer momento. Outras ocorrências, como interrupções e modificações eventuais no processo, devem ser rigorosamente documentadas. |

Fonte: NASSU, MACEDO e LIMA (2006).

Estudo realizado em unidades produtoras de queijo de coalho localizadas no: Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte, demonstrou que a implantação das BPF, proporciona um conhecimento especializado e de competição, gerando novas percepções de desenvolvimento. Além disso, após receberem as informações sobre BPF de queijo de coalho e colocá-las em prática, os produtores de queijo afirmaram que os conhecimentos obtidos foram de fundamental importância para o aprendizado, uma vez que eleva valor ao produto e também a comercialização do mesmo (ARAÚJO et al., 2011).

A aplicação das Boas Práticas de Fabricação é primordial em todos os setores alimentícios, inclusive os de laticínios. A implantação dessas normas deve ocorrer mediante trabalho em conjunto entre o proprietário e seus colaboradores a fim de, que haja eficácia da aplicação das BPF (MACÊDO e JÚNIOR, 2012).

Dessa maneira, com a implantação das BPF no processo de produção do derivado lácteo, consequentemente o padrão de qualidade de segurança alimentar e nutricional do produto aumentará em decorrência da melhoria da produção, processamento e comercialização do queijo de coalho (NASSU, MACEDO e LIMA, 2006; ARAÚJO et al., 2011 e 2012).

4 CONCLUSÕES

O queijo de coalho é considerado um dos produtos típicos mais comercializados na região Nordeste do Brasil, sendo este uma fonte geradora de renda para os agricultores de base familiar e proprietários de médias e pequenas queijarias.

Contudo, este derivado lácteo é associado a um produto com potencial comprometimento microbiológico devido à falta de condições higiênico-sanitárias no seu sistema de produção.

Diante desse contexto, é de suma importância a implantação de BPF para a melhoria do sistema produtivo de queijo de coalho, pois as normas presentes nesse manual atuam na capacitação tanto, dos proprietários de queijarias quanto, dos seus colaboradores, para que estes ofereçam um produto seguro para o consumo humano no que se refere aos padrões nutricionais e microbiológicos preconizados pela legislação em vigor para laticínios.

REFERÊNCIAS

ADAMS, M. R.; MOSS, M. O. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza (España): Editorial Acribia, S. A. p.258-264,1997.

ALBUQUERQUE, L. C. **História da fabricação de queijos**. Disponível em: <
<http://cienciadoleite.com.br/noticia/228/a-historia-da-fabricacao-de-queijos-no-mundo>>. Acessado em: 17 de junho de 2016.

ALMEIDA, S. L.; JUNIOR, F. G. P.; GUERRA, J. R. F. Representação da produção e consumo do queijo coalho artesanal. **Revista interdisciplinar de gestão social**, v. 2 n.2, 2013.

ALZAMORA, S. M.; TAPIA, M. S.; LÓPEZ-MALO, A.; WELTI-CHANES, J. The control of water activity. In: ZEUTHEN, P.; BOGH-SØRENSEN, L. (Ed.). **Food Preservation Techniques**. Cambridge: Woodhead Publishing, p. 126-153, 2003.

ANDRADE, A. A. **Estudo do perfil sensorial, físico-químico e aceitação do queijo de coalho produzido no estado do Ceará**. 2006. 127 f. Dissertação (Mestrado em tecnologia de alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

ANDRADE, A. A. **Estudo do perfil sensorial, físico-químico e aceitação do queijo de coalho produzido no estado do Ceará.** 2006. 127 f. Dissertação (Mestrado em tecnologia de alimentos) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2006.

AQUARONE, E.; BORZONI, W.; SCHMIDELL, W.A.; LIMA, U.A. **Biotecnologia Industrial: biotecnologia na produção de alimentos**, v.4. São Paulo: Edgar Blucher, 2001.

ARAÚJO, J. B. C.; PIMENTEL, J. C. M.; NETO, A.G.V.; MATTOS, A. L. A.; PESSOA, P. F. A. P. Adoção de tecnologia para melhoria do processo de produção de queijo de coalho artesanal de agricultores familiares dos estados do Ceará, Piauí e Rio Grande do Norte. In: **XXXI Encontro nacional de engenharia de produção Inovação Tecnológica e Propriedade Intelectual: Desafios da Engenharia de Produção na Consolidação do Brasil no Cenário Econômico Mundial**, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 2011.

ARAÚJO, J. B. C.; PIMENTEL, J. C. M.; PAIVA, F. F. A.; MARINHO, F. A.; PESSOA, P. F. A.P.; VASCONCELO, H. E. M. Pesquisa participativa e o novo modelo de produção de queijo coalho artesanal da Comunidade de Tiasol, em Tauá, CE. **Cadernos de Ciência & Tecnologia, Brasília**, v. 29, n. 1, p. 213-241, 2012.

ARAÚJO, J. B.C; PIMENTEL, J. C. M; PAIVA, F. F. DE A; MARINHO, F. de A.; FEITOZA, E. M. B. DE A. C. DIVERSIDADE E PRÁTICAS NA AGRICULTURA FAMILIAR: A agroindústria de queijo de coalho da Comunidade de Tiasol, Tauá-CE. Congresso Cearense de Agroecologia. **Anais do Congresso Cearense de Agroecologia**. Fortaleza, 2008.

BALLESTEROS, C.; POVEDA, J. M.; GONZÁLEZ-VIÑAS, M. A.; CABEZAS, L. Microbiological, biochemical and sensory characteristics of artisanal and industrial Manchegocheeses. **Food Control**, v. 17, p. 249-255. 2006.

BERESFORD, T. P.; FITZSIMONS, N. A.; BRENNAN, N. L. COGAN, T. M. Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 259-274, 2001.

BORGES, M. F.; FEITOSA, T.; NASSU, R. T.; MUNIZ, C. R.; AZEVEDO, E. H. F.; FIGUEIREDO, E. A. T. Microrganismos patogênicos e indicadores em queijo coalho produzido no

Estado do Ceará, **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Brasil. v.21, n.1, p.31-40, 2003.

BORGES, M. F.; NASSU, R. T.; PEREIRA, J. L.; ANDRADE, A. P. C.; KUAYE, A. Y. Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. **Revista Ciência Rural**, v.38, n.5, p.1431-1438, 2008.

BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U.A.; AQUARONE, E. **Biotechnologia industrial**. São Paulo: Edgar Blucher, v.4, p.254, 2001.

BRASIL, Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 62 de 29/12/2011. **Instrução Normativa n.62, de 29 de dezembro de 2011**. Diário Oficial da União, Brasília, Distrito Federal, 30 de dezembro de 2011.

BRASIL. **Instrução Normativa Nº 68**, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos, em conformidade com o anexo desta Instrução Normativa, determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 de dezembro 2006, Seção 1, p. 8. Disponível em:

<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis51consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17472>, acesso em 15 de junho de 2016.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Portaria nº 146**, de 07 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 30**, de 26/06/2001. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Coalho. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 368**, de 4 de setembro de 1997. Aprova o regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos elaboradores / industrializadores de alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 8 de setembro. 1 seção, 1997.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Resolução nº 10**, de 4 de maio de 2003. Institui o Programa Genérico de PROCEDIMENTOS - PADRÃO DE HIGIENE OPERACIONAL - PPHO, a ser utilizado nos Estabelecimentos de Leite e Derivados que funcionam sob o regime de Inspeção Federal, como etapa preliminar e essencial dos Programas de Segurança Alimentar do tipo APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle). Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 28 de maio, seção 1, 2003.

BRITO, C. O. **Agroindústria artesanal e o programa fábrica do agricultor: uma tentativa de racionalizar a atividade em uma unidade de produção agrícola familiar**. 2005. 95p. Dissertação (Mestrado em Sociologia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

CARVALHO, J. D. G. **Caracterização da microbiota lática isolada de queijo de Coalho artesanal produzido no Ceará e de suas propriedades tecnológicas**. 2007. 182 f. Tese(Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

CASCUDO, L. C. **História da Alimentação no Brasil**. 1ª edição. São Paulo: global editora, 2004.

CAVALCANTE, J. F. M.; ANDRADE, N. J.; FURTADO, M. M.; FERREIRA, C. L. L. F.; PINTO, C. L. O.; ELARD, E. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura lática endógena. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p. 205-214, 2007.

DANTAS, D. S. **Qualidade Microbiológica do queijo de coalho comercializado no Município de Patos, PB**. 2012. 79 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campina Grande, 2012.

DUARTE, D. A. M.; SCHUCH, D. M. T.; SANTOS, S. B.; RIBEIRO, A. R.; VASCONCELOS, A. M. M.; SILVA, J. V. D.; MOTA, R. A. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no Estado do Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 3, p. 297-302, 2005.

ESCOBAR, C. A. M.; LEUTHIER, S.; ANTUNES, G.; ALBUQUERQUE, R. C. L. Avaliação dos pontos críticos na produção de queijo de coalho em Pernambuco. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 56, n. 321, p. 248-256, 2001.

FEITOSA, T.; BORGES, M. F.; NASSU, R. T.; AZEVEDO, E. H. F.; MUNIZ, C. R. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico sanitários em queijos produzidos no Estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.23, p.162-165, 2003.

FERNANDES, A. M. S. **O PRONFAF na Agricultura Familiar: sua criação, distribuição e principais resultados**. 20013.58p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Economia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, 2013.

FERREIRA, C.L. **Série Laticínios- Produção de queijo do reino, cottage, coalho e ricota**. CPT (Centro de Produções Técnicas), Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008.

FOODS INGREDIENTES BRASIL, 2011. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/164.pdf> , acessado em 01 de junho de 2015.

FOX, P. F.; GUINEE, T. P.; COGAN, T. M.; MCSWEENEY, P. L. H. Pathogens and food-poisoning bacteria in cheese. **Fundamentals of Cheese Science**. p.503. 2000.

FREITAS FILHO, J. R.; SOUZA FILHO, J. S.; OLIVEIRA, H. B.; ANGELO, J. H. B.; BEZERRA, J. D. C. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO QUEIJO “COALHO” ARTESANAL FABRICADO EM JUCATI - PE. **Extensio: Revista Eletrônica de Extensão**, p. 35-49, 2009.

FREITAS, W. C.; TRAVASSOS, A. E. R.; FERREIRA, J. Avaliação microbiológica e físico-química de leite cru e queijo de coalho produzidos no estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.15, n.1, p.35-42, 2013.

GAVA, A. J. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2009.

GOMES, F. C. O; MOREIRA, V. G.; ROSA, C. A.; SILVA, C. L. C; WALTER, M. E. Avaliação microbiológica, físico-química e sensorial de amostras de queijo minas artesanal, comercializadas

em mercado público de Belo Horizonte, MG. **Revista Higiene Alimentar**, v.25, n. 192/193, p. 97-101, 2011.

GUERREIRO, P. K.; MACHADO, M. R. F.; BRAGA, G. C.; GASPARINO, E.; FRANZENER, A. S. M. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222, 2005.

LIMA, A.F. **Staphylococcus coagulase-positiva e enterotoxinas em queijo de coalho**. 2005. 86f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, 2005.

LOPES, M. A.; CARVALHO, F. M. Análise de rentabilidade de uma empresa com opção de comercialização de queijo ou leite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n.4, p. 642-647, 2006.

MACÊDO, I.L.; JUNIOR, A.F.S. Implantação das boas práticas de fabricação em um estabelecimento produtor de bolos de currais novos/RN. **IN: VII Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação**, Palmas, Tocantins, Brasil, 2012.

MENEZES, S. S. M. **Queijo de coalho: tradição cultural e estratégia de reprodução social na região Nordeste**. Revista de Geografia (UFPE) v.28, n.1, 2011. Disponível em: <<http://www.revista.ufpe.br/revistageografia/index.php/revista/article/viewFile/318/339>>, acessado em 28 de julho de 2015.

MENEZES, S. S. M.; SILVA, J. N. G.; SANTOS, S. QUEIJO DE COALHO CASEIRO: a tradição como ativo territorial no município de Porto da Folha. **Ateliê Geográfico**, v. 6, n. 3, p. 52-71, 2012.

MUNCK, A. V. Queijo de coalho: princípios básicos da fabricação. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, Juiz de Fora, v.59, n.339, p.13-15, 2004.

NASSU, R. T.; MACEDO, B.A.; LIMA, M.H.P. **Queijo de Coalho**. EMBRAPA Informação Tecnológica. Brasília, 2006.

NASSU, R.T.; ARAÚJO, R. S.; BORGES, M. F.; LIMA, J.R.; MACÊDO, B.A.; LIMA, M. H. P.; BASTOS, M. S. R. Diagnóstico das condições de processamento de queijo de Coalho e manteiga da terra no Estado do Ceará. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 89, p. 28-36, 2001.

ORDOÑEZ, J. A. Tecnologia de Alimentos: componentes dos alimentos e processo. Porto alegre: Artmed, v.1, 2005.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Guias para o gerenciamento dos riscos sanitários em alimentos**. Rio de Janeiro: Área de Vigilância Sanitária, Prevenção e Controle de Doenças - OPAS/OMS; 2009.

PAQUEREAU, B.; MACHADO, G.; CARVALHO, S. A produção do leite e do queijo se torna cultura. In: PAQUEREAU, B.; MACHADO, G.; CARVALHO, S. **O queijo de coalho em Pernambuco: histórias e memórias**. Garanhuns: E. dos Autores, p. 20-27, 2016.

PAULA, J. C. J.; CARVALHO, A.F.; FURTADO, M. M. Princípios básicos de fabricação de queijo: do histórico à salga. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 367/368, p. 19-25, 2009.

PEIXOTO, A. M. S.; PRAÇA, E. F.; GÓIS, V. A. A potencialidade microbiológica de coagulação do coalho líquido artesanal. **Revista Verde**, v.2, n.2, p. 52-64, 2007.

PEREZ, R. M. **Perfil sensorial, físico-químico e funcional de queijo coalho comercializado no município de Campinas, SP**. 2005. 122p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2005.

PERNAMBUCO. Secretária de Produção Rural e Reforma Agrária. **Resolução nº 002** de 19 de abril de 1999. Estabelece a identidade e os requisitos mínimos de qualidade que deverá cumprir o Queijo de Coalho produzido no Estado de Pernambuco e destinado ao consumo humano. Diário oficial do Estado de Pernambuco, Recife, 1999.

PERRY, K. S. P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química Nova**, v.27, n.2, p.293-300, 2004.

PINTADO, A. I. E; PINHO, O; FERREIRA, I. M. P. L. V. O; PINTADO, M. M. E; GOMES, A. M. P; MALCATA, F. X. Microbiological, biochemical and biogenic amine profiles of Terrincho cheese manufactured in several dairy farms. **International Dairy Journal**, v. 18, p. 631-640. 2008.

PORTO, B.C.; FUJIMOTO, G.; BORGES, M.F.; BRUNO, L.M.; CARVALHO, J.D.G.
Determinantes de virulência em *Enterococcus* endógenos de queijo artesanal. **Revista Ciência Agronômica**, v.47, n.1, 2016.

RAHMAN, M. S.; GUIZANI, N. G.; AL-RUZEIKI, M. H. D- and Z- values of microflora in tuna mince during moist and dry heating. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 37, p. 93-98, 2004.

SALINAS, R. D. **Alimentos e Nutrição- Introdução à Bromatologia**. 3º edição, Porto Alegre: Artmed, 2002.

SEBRAE- Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Queijos Nacionais: estudos de mercado**. SEBRAE/ESPM. SEBRAE, 2008.

SEBRAE. **Como montar uma fábrica de queijo artesanal (coalho e manteiga)**. 2011. Disponível em: <[http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ideias/Como-montar-uma-f%C3%A1brica-de-queijo-artesanal-\(coalho-e-manteiga\)#naveCapituloTopo](http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ideias/Como-montar-uma-f%C3%A1brica-de-queijo-artesanal-(coalho-e-manteiga)#naveCapituloTopo)>, acessado em 07 de junho de 2016.

SGARBIERI, V.C. Revisão: Propriedades estruturais e físico-químicas das proteínas do leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.8, n.1, p.43- 56, 2005.

SILVA, F.T. **Manual de produção de queijo de coalho**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 36p. 1996.

SILVA, R.A.; BEZERRA, V.S.; PIMENTEL, M.C. B.; PORTO, A.L.F.; CAVALCANTI, M.T.H.; FILHO, J.L.L. Proteomic and peptidomic profiling of Brazilian artisanal 'Coalho' cheese. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n.13, p.4337- 4344, 2016.

SOUSA, A. Z. B.; ABRANTES, M. C.; 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. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 1, p. 30-35, 2014.

SOUZA, G.T. **Efeitos do óleo essencial de *Origanum vulgare* L. sobre o crescimento de bactérias patogênicas e tecnológicas em queijo de coalho**. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2015.

VIANA, L. F. E. S. **A pequena produção e comercialização do queijo em Cachoeirinha/PE: organização sócio-espacial, evolução e perspectivas**. 2008. 146p. Dissertação (Mestrado em Geografia). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2008.

VIDAL, R.H.L. **Diagnóstico regional do processo de queijo de coalho comercializado em Natal/RN**. 96p. 2011. Dissertação (Mestre) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011. Disponível em: <
http://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/15817/1/RogeriaHLV_DISSERT.pdf >, acesso em 10 de junho de 2016.

7 Capítulo de Livro

Capítulo publicado em 2019 no livro: Bases Conceituais da Saúde 6

(ISBN 978-85-7247-137-4)

CARACTERIZAÇÃO DO CONSUMIDOR DE QUEIJO DE COALHO NO INTERIOR DE PERNAMBUCO

Dayane de Melo Barros

Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente
– Centro Acadêmico de Vitória, Universidade
Federal de Pernambuco, CAV/UFPE- Pernambuco

Danielle Feijó de Moura

Mestre em Saúde Humana e Meio Ambiente
– Centro Acadêmico de Vitória, Universidade
Federal de Pernambuco, CAV/UFPE –
Pernambuco

Tamiris Alves Rocha

Mestre em Bioquímica e Fisiologia – Universidade
Federal de Pernambuco - Pernambuco

Silvio Assis de Oliveira Ferreira

Mestre em Bioquímica e Fisiologia – Universidade
Federal de Pernambuco - Pernambuco

Roberta Albuquerque Bento da Fonte

Doutora em Nutrição – Universidade Federal de
Pernambuco - Pernambuco

Erilane de Castro Lima Machado

Doutora em Nutrição – Universidade Federal de
Pernambuco - Pernambuco

Ranilson de Souza Bezerra

Doutor em Ciências Biológicas – Universidade
Federal de Pernambuco - Pernambuco

RESUMO: O queijo de coalho é um produto típico do Nordeste e amplamente consumido pela população regional, exercendo influência de âmbito social e econômico. Frente a isso, o conhecimento sobre o perfil dos consumidores

é de considerável relevância, pois permite orientar o trabalho de produção e direcionar o processo de divulgação e comercialização. Logo o objetivo do presente estudo foi caracterizar do consumidor de queijo de coalho no município de Vitória – PE. Para a caracterização do consumidor, foi aplicado um questionário com um número amostral de 100 participantes selecionados conforme a disponibilidade e critérios de inclusão, posteriormente, os participantes foram direcionados a cabines individuais a fim de, responder perguntas específicas que continham informações acerca do consumo de queijo de coalho. A avaliação do perfil do consumidor demonstrou que a maioria dos consumidores, optam por este laticínio numa frequência entre 2 ou mais vezes por semana (42%) devido a hábito alimentar (73%) e adquirem preferencialmente o produto em supermercados ou mercados (66%) porém, ainda existe a compra por meio de feira livre e vendedores ambulantes (totalizando 34%), e sobre o tipo de embalagem, 35%, costumam comprar o queijo de coalho embalado por plástico de polietileno. Diante dos achados, pôde-se verificar que o queijo de coalho é um componente alimentar comum na dieta e apesar da maior parte da sua aquisição ser através de supermercados ou mercados, há uma porcentagem significativa de indivíduos que adquirem este produto em feiras livres ou

por vendedores informais, podendo causar riscos a saúde do consumidor.

PALAVRAS-CHAVE: Caracterização, Laticínio, Nordeste, Produção.

ABSTRACT: The coalho type cheese is a typical product of the Northeast and widely consumed by the regional population, exerting influence of social and economic scope. As a result, knowledge about the profile of consumers is of considerable relevance, since it allows guiding the production work and directing the dissemination and commercialization process. Therefore the objective of the present study was to evaluate the consumer profile of coalho type cheese in the city of Vitória - PE. For the consumer characterization, a questionnaire with a sample number of 100 participants selected according to the availability and inclusion criteria was applied, after which the participants were directed to individual booths in order to answer specific questions that contained information about consumption of coalho type cheese. The consumer profile assessment showed that the majority of consumers opt for this dairy at a frequency between 2 or more times per week (42%) due to food habits (73%) and preferentially buy the product in supermarkets or markets (66%) however, there is still the purchase through a fair and street vendors (totaling 34%), and on the type of packaging, 35%, usually buy rennet cheese packed with polyethylene plastic. In view of the findings, it can be verified that coalho type cheese is a common food component in the diet and although most of its acquisition is through supermarkets or markets, there is a significant percentage of individuals who buy this product in a fair sellers and may pose a risk to consumer health.

KEYWORDS: Characterization, Dairy, Northeast, Production.

INTRODUÇÃO

No Brasil a produção de queijos possui significativa importância econômica, o país representa a sexta maior produção mundial de queijo. Dados referentes ao período de 2013 indicam que dos 35 bilhões de litros de leite produzidos em território nacional 60% (21 bilhões de litros de leite) foram disponibilizados para a produção de queijos (SEBRAE, 2018).

Dentre os queijos mais conhecidos e consumidos a nível nacional, o queijo de coalho é considerado um alimento típico brasileiro e originário da região nordeste, sua produção existe há mais de 150 anos. O nome deriva do uso de coalho no processo de fabricação, a utilização do coalho, baseia-se em uma observação de viajantes que ao atravessarem grandes distâncias levando leite nos matulões (bolsas fabricadas a partir do estômago de animais jovens), verificaram que este coagulava transformando-se em uma massa com sabor característico. Então a referida massa veio a ser popularmente conhecida como queijo de coalho (ANDRADE, 2008; QUEIROGA et al., 2013; PAQUEREAU, MACHADO e CARVALHO, 2016).

A maioria do queijo de Coalho é produzida nos estados pertencentes ao nordeste brasileiro, principalmente em: Pernambuco, Ceará, Rio Grande do Norte e Paraíba.

Em particular, Pernambuco considera o queijo de Coalho como patrimônio cultural e imaterial do estado. Os principais atributos desse queijo são o seu sabor ligeiramente ácido, podendo ser salgado e sua resistência ao calor sem derreter (PAQUEREAU, MACHADO e CARVALHO, 2016).

Apesar do queijo de coalho ser considerado um importante derivado do leite, apreciado pela população tanto pelo seu valor nutritivo quanto pelo seu sabor, as condições de processamento, armazenamento e comercialização podem comprometer suas propriedades sensoriais, bem como, torná-lo inadequado para consumo (FREITAS et al., 2009).

Diante desse contexto, o estudo do comportamento do consumidor é essencial para compreender as razões que levam os mesmos a optarem ou não pela aquisição de um produto (ENDO et al., 2009). O sucesso ou insucesso de um produto está sujeito à reação do consumidor a ele (SOLOMON, 2002; RODRIGUES, 2004; DAGEVOS, 2005). Logo, a pesquisa de mercado, tem se revelado como uma estratégia útil para a elucidação do comportamento dos consumidores de alimentos (ENDO et al., 2009).

O conhecimento acerca do perfil/preferências dos consumidores permite orientar o trabalho de produção, direcionar o processo de marketing e comercialização além de, transmitir uma ideia da importância desse segmento de consumo no mercado regional. As distintas percepções dos consumidores em relação à qualidade do produto sejam elas de ordem qualitativa ou quantitativa, evidenciam a necessidade de existirem mais investigações científicas acerca da percepção no consumo de derivados lácteos no Brasil (GOLDBARG, 2007; VIANA e REVILLION, 2010).

A pesquisa de perfil do consumidor trata particularmente, sobre a análise empírica de como ocorre o processo de compra e os fatores que estão associados ao processo de aquisição do produto. À vista disso, a comunidade científica e as organizações buscam conhecer os gostos, preferências, hábitos e atitudes dos consumidores, para que seja possível apresentar perspectivas e tendência sobre o comportamento de consumo (OLIVEIRA; THEBAUD-MONY, 1997; VIDAL, 2011).

Ressalta-se que um dos métodos mais utilizados para obter o conhecimento sobre os consumidores é a aplicação de questionários, visando traçar um perfil de suas preferências e, por conseguinte ofertar no mercado produtos com maior qualidade e que atendam às novas demandas (ROZADOS e PIFFER, 2009). Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo caracterizar do consumidor de queijo de coalho no interior de Pernambuco.

METODOLOGIA

A caracterização do consumidor de queijo de coalho foi definida como perfil descritivo de pesquisa populacional, onde foi aplicado um questionário em um plano amostral incluindo 100 participantes do município de Vitória de Santo Antão

– Pernambuco, escolhidos de acordo com a disponibilidade e critérios de inclusão (gostar de queijo de coalho e ter idade acima de 18 anos).

Previamente a aplicação do questionário, os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE em conformidade com o projeto de pesquisa submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE (CAAE 56538416.7.0000.5208), em conformidade com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

A aplicação do questionário foi realizada no Centro Acadêmico de Vitória, Universidade Federal de Pernambuco – CAV/UFPE, onde cada participante foi direcionado para cabines a fim de, responder as perguntas de maneira individual. O questionário continha perguntas sobre: sexo, faixa etária, doença, intolerância à lactose ou alergia a queijo de coalho, frequência do consumo do queijo de coalho, motivo do consumo do queijo de coalho, local de aquisição e tipo de embalagem do queijo de coalho. O questionário foi utilizado como material de pesquisa sobre a opinião pública e como indicativo do perfil do consumidor de queijo de coalho.

Posteriormente, a aplicação do questionário, foi construído um banco de dados no programa Excel (Microsoft Corporation, versão 2010), sendo os resultados expressos em porcentagens.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Participaram do questionário 100 participantes (incluindo docentes, discentes e técnicos do CAV/UFPE, distribuídos da seguinte forma: 51% do sexo masculino e 49% do sexo feminino, com idade entre 18 e 49 anos. Todos os avaliadores afirmaram não possuir nenhum tipo de doença, intolerância à lactose ou alergia a queijo de coalho.

Em relação frequência do consumo de queijo de coalho, a maioria dos participantes (Figura 1) relatou que o consome duas ou mais vezes por semana (42%) ou pelo menos uma vez ao dia (17%). Conforme Vidal (2011), 45,25% dos apreciadores de queijo de coalho da cidade de Natal-RN, consomem este derivado lácteo de uma a três vezes/semana e 17,5% afirmaram consumir diariamente, demonstrando sinergia com o estudo.

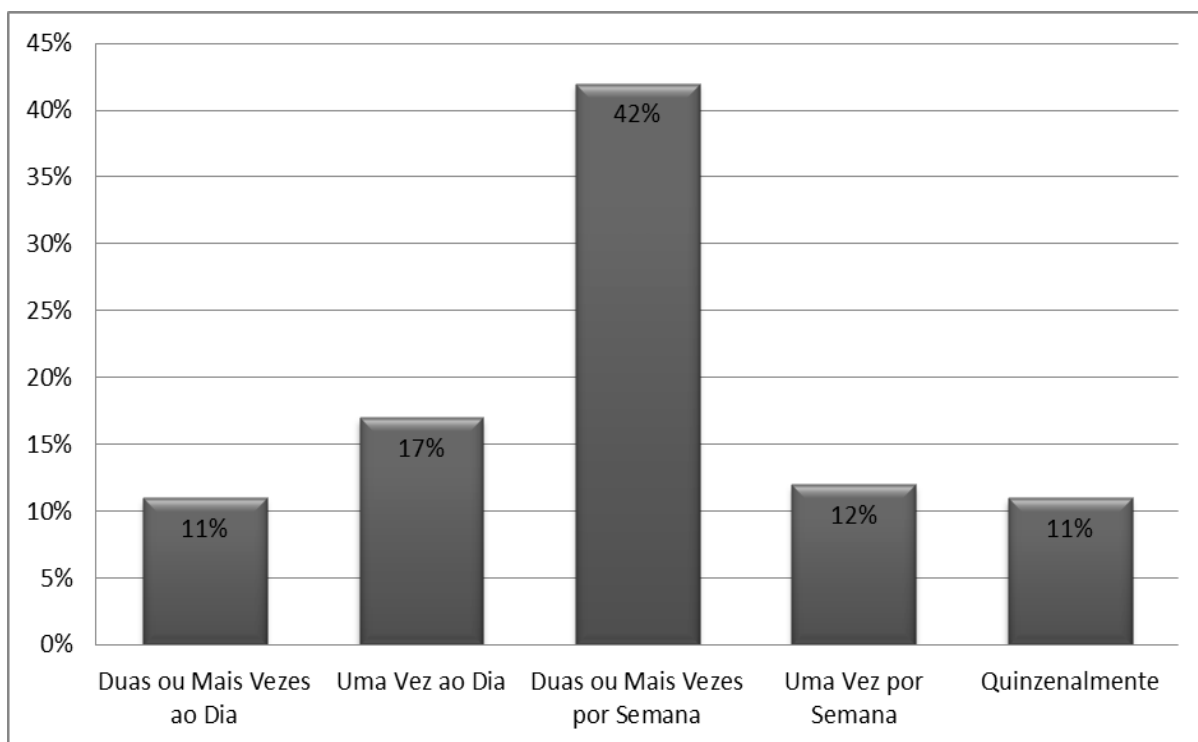


Figura 1: Frequência do consumo de queijo de coalho.

Sobre os motivos pelos quais os participantes preferem consumir queijo, os mesmos puderam responder mais de uma opção. Dentre as razões (Figura 2), 73% dos indivíduos, a maioria, garantiu consumi-lo por hábito, demonstrando sua tipicidade na região, ou seja, este dado que este produto é habitual, popular e faz parte da cultura nordestina (ALMEIDA, PAIVA JÚNIOR e GUERRA, 2013).

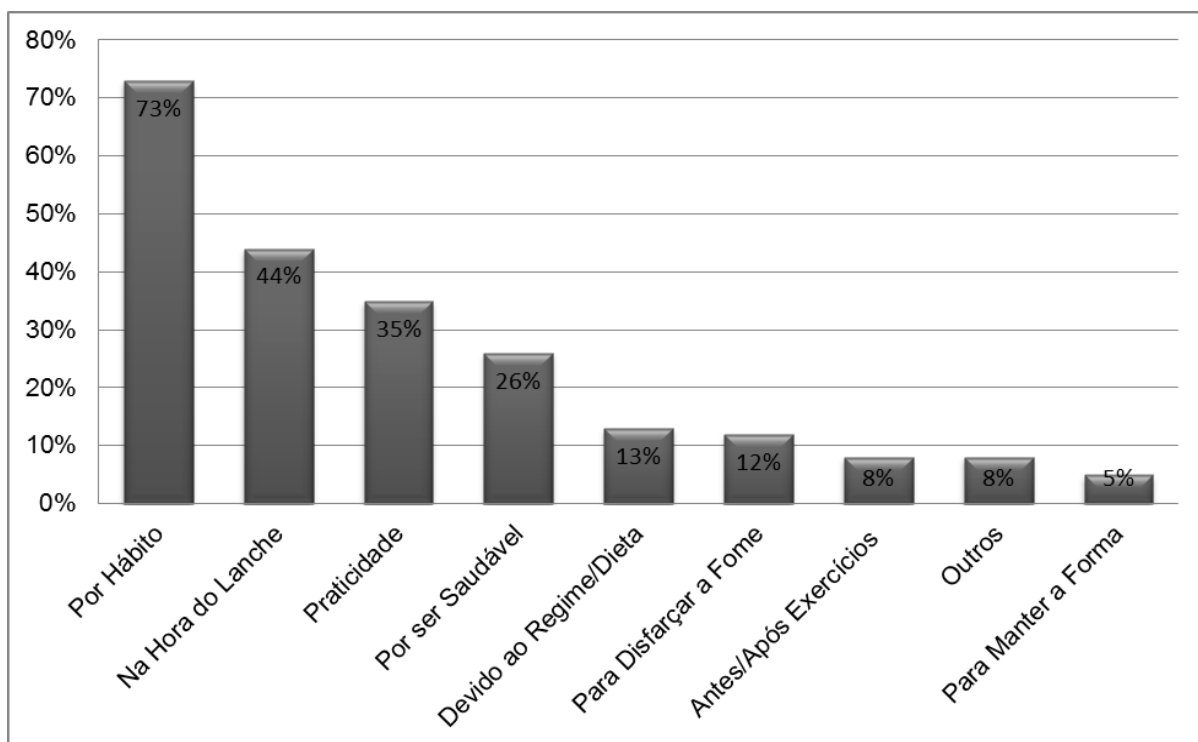


Figura 2: Motivos atribuídos ao consumo de queijo de coalho.

Além disso, as características nutricionais e sensoriais do queijo de coalho são de boa aceitação comercial, fazendo com que este produto seja consumido nas mais diversas refeições e devido a sua versatilidade pode ser utilizado em receitas como ingrediente principal ou secundário, agradando aos mais diversos grupos sociais, econômicos e étnicos (OPAS, 2009; ALMEIDA, PAIVA JÚNIOR e GUERRA, 2013).

Quando questionados sobre o local de compra, 66% dos participantes afirmaram comprar mais queijo de coalho no supermercado ou mercado (Figura 3). Achados semelhantes foram obtidos por Vidal (2011), que ao realizar uma entrevista acerca do perfil dos consumidores de queijo de coalho na cidade de Natal – RN verificou que pouco mais de 87,00% dos consumidores preferiam comprar o queijo em supermercados ou mercados, enquanto que, 5,25% e 7,75% dos indivíduos relataram comprar de vendedores ambulantes, sendo que, a grande maioria não têm instalações compatíveis tampouco, possuem orientações apropriadas que contribuam na comercialização de um alimento seguro para o consumo (PEIXOTO, PRAÇA e GÓIS, 2007; OLIVEIRA et al., 2010).

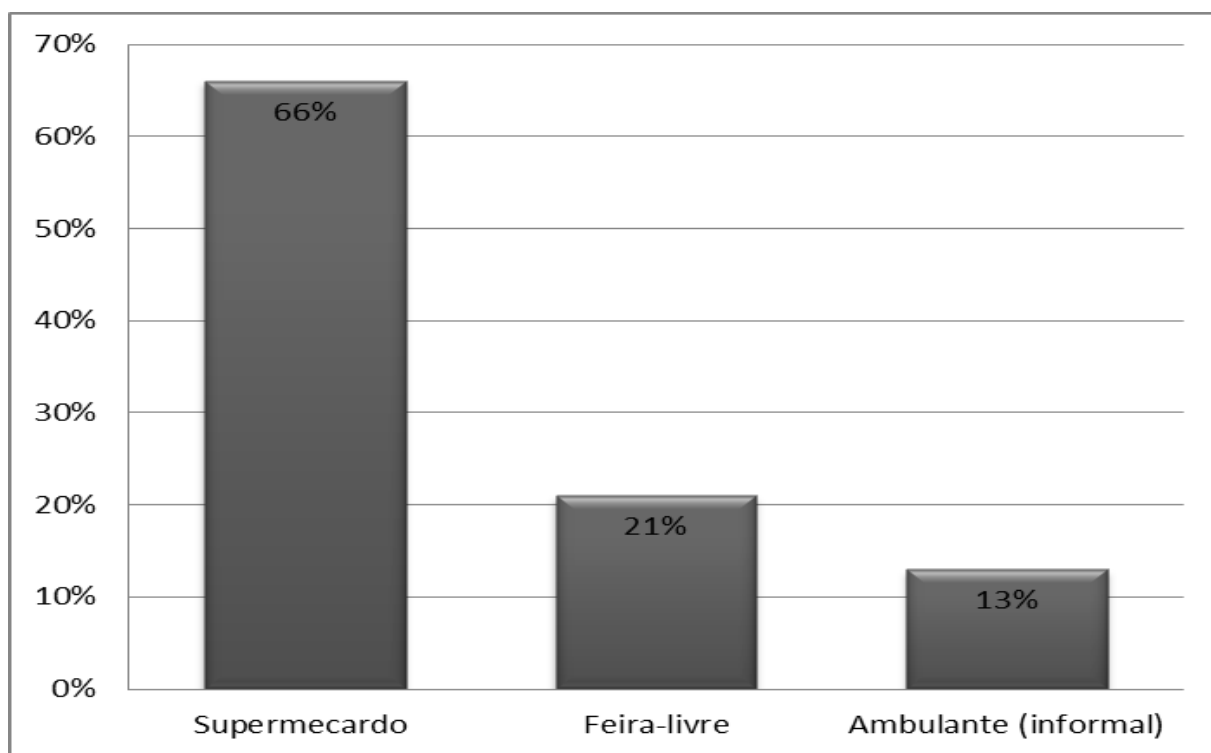


Figura 3: Local de aquisição do queijo de coalho.

Achados científicos indicam os possíveis motivos pelos quais os consumidores optam por adquirir alimentos principalmente em supermercados.

De acordo com Andrade e colaboradores (2013), ao avaliarem o perfil dos consumidores de alimentos de duas grandes cidades brasileiras (Campinas - SP e Rio de Janeiro - RJ), observaram que o supermercado é o ambiente de compra mais utilizado pelos consumidores por que dentre outros fatores, transmite maior confiabilidade, quanto a segurança microbiológica sobretudo, no que diz respeito aos

alimentos perecíveis quando comparado com outros ambientes de comercialização. Além disso, os clientes de supermercado optam por este espaço para as compras, devido a outras razões tais como: familiaridade com o estabelecimento (o que torna-os mais habituados e direcionados no espaço físico), diversidade de produtos e preços, agilidade de atendimento e funcionários com atuação prestativa (RINALDI, MORABITO e TACHIBANA, 2009).

Sobre o tipo de embalagem de aquisição do queijo de coalho, as respostas distribuíram-se de maneira proporcional, dos 100 provadores, 35% afirmaram adquirir o queijo de coalho embalado em saco plástico de polietileno, 34% em embalagem de PVC e 31% em embalagem a vácuo (Figura 4).

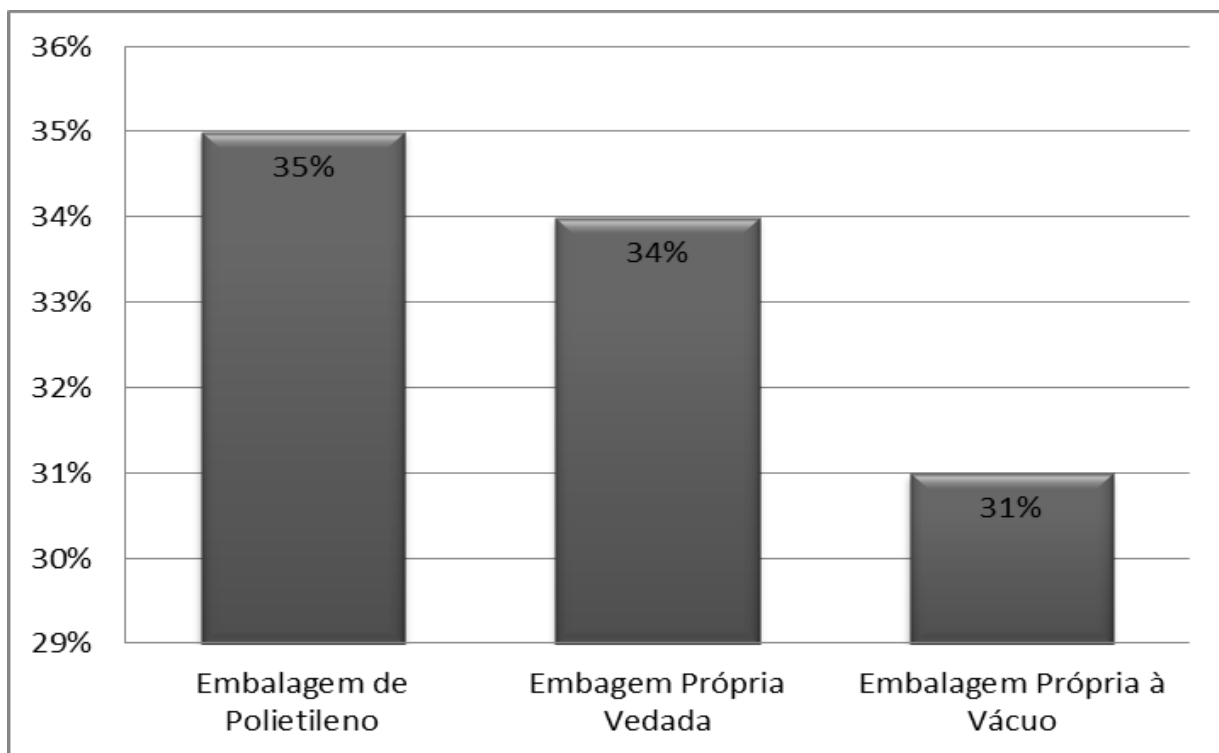


Figura 4: Tipo de embalagem para a aquisição do queijo de coalho.

O queijo de coalho deve ser acondicionado em embalagem plástica, com etiqueta de identificação (data de fabricação, data de validade e dados completos do produtor), seguindo as normas Portaria nº 371 de 1997 e da RDC nº 259 de 2002 (BRASIL, 1997; BRASIL, 2002; NASSU, MACEDO e LIMA, 2006).

A maioria dos participantes (35%) afirmou comprar o queijo em embalagem diferente da original (saco plástico de polietileno). É importante salientar as técnicas de manipulação dos alimentos e a saúde dos funcionários. Estes fatores devem ser considerados no controle *higiênico-sanitário* para a obtenção de *alimentos seguros*. As Boas Práticas de Fabricação (BPFs) abrangem itens que permitem avaliar e identificar todo o processamento do alimento, elencando as condições fundamentais para a segurança dos alimentos (MACHADO, 2009).

Segundo Peixoto, Graça e Góis (2007), as embalagens, devem adequar-

se as BPFs, a fim de, não causar risco de contaminação dos queijos evitando consequentemente intoxicações alimentares decorrentes de alimentos comprometidos a nível microbiológico.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O queijo de coalho é consumido como parte da dieta habitual dos residentes do município de Vitoria de Santo Antão – PE e a maior parte destes indivíduos adquire o produto em supermercados, contudo, 34% destes consumidores ainda realizam esta aquisição através de feira-livre ou vendedor ambulante, o que pode representar um grande risco à saúde da população, dada as condições de trabalho que envolve a ausência de: instalações compatíveis (inseguras para a comercialização) e o conhecimento acerca dos aspectos higiênicos e sanitários adequados ao ambiente de trabalho.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, S. L.; PAIVA JÚNIOR, F. G. GUERRA, J. R. F. Representação da produção e consumo do queijo coalho artesanal. **Revista interdisciplinar de gestão social**, v.2 n.2, 2013.
- ANDRADE, J.C; DELIZA, R.; YAMADA, E.A.; GALVÃO, M.T.E.L. Percepção do consumidor frente aos riscos associados aos alimentos, sua segurança e rastreabilidade. **Food Technology**, Campinas, v. 16, n. 3, p. 184-191, 2013.
- ANDRADE, M.C. **Queijo de Coalho**. Pesquisa Escolar Online. Fundação Joaquim Nabuco, Recife, 2008. Disponível em: http://basilio.fundaj.gov.br/pesquisaescolar/index.php?option=com_content&id=186%3Aqueijo-de-coalho. Acesso em 17 de maio de 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº259** de 20 de setembro de 2002. Aprova o Regulamento Técnico sobre Rotulagem de Alimentos Embalados, 2002.
- BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura e do Abastecimento. **Portaria nº 371** de 04 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico para Rotulagem de Alimentos Embalados, 1997.
- DAGEVOS, H. Consumers as four-faced creatures: looking at food consumption from the perspective of contemporary consumers. **Appetite**, v. 45, n. 1, p. 32-39, 2005.
- DANTAS, D. S. **Qualidade Microbiológica do queijo de coalho comercializado no Município de Patos, PB**. 2012. 79 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campina Grande, 2012.
- ENDO, E.; BERTOLDI, M. C.; PINHEIRO, N. M. S.; ARRUDA, A. C.; MINIM, V. P. R. Caracterização do mercado consumidor de água aromatizada da cidade de Juiz de Fora/MG. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 1-6, 2009.
- FREITAS, F.L.; LUZ, I.S.; PINHEIRO JUNIOR, J.W.; DUARTE, D.A.M.; VASCONCELOS, A.M.N.; RIBEIRO, A.R. Detecção de Genes Toxigênicos em Amostras de Staphylococcus spp Isolados em Queijo de Coalho. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n.29,p.375-379, abril-jun. 2009.

GOLDBARG, M. **Perfil do Consumidor de Leite do Município de Volta Redonda - RJ**. 2007. Monografia (Especialização)- Pós-Graduação em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal e Vigilância Sanitária em Alimentos, Universidade Castelo Branco, RJ, 2007.

MACHADO, Márcio Rogério Morais. **Avaliação das condições de higiene na manipulação de alimentos do restaurante universitário da universidade estadual de Londrina – PR**. 2009. 15 f. Especialização (Especialista em Gestão Pública), Instituto Superior de Educação do Paraná, 2009.

NASSU, R. T.; MACEDO, B.A.; LIMA, M.H.P. **Queijo de Coalho**. EMBRAPA Informação Tecnológica. Brasília, 2006.

OLIVEIRA, O.M.A.; BASTOS, M.R.S.; FONTENELLE, M.A.; OLIVEIRA, C.W.; SILVA, A.P.V. Adequação da Produção de Leite para Queijo Coalho, Conforme Instrução Normativa Nº 51. **Revista Higiene Alimentar**, v. 24, nº 182, 2010.

OLIVEIRA, S. P.; THEBAUD-MONY, A. Estudo do consume alimentar: em busca de uma abordagem multidisciplinar. *Revista Saúde Pública*, v. 31, n. 2, p. 201-208, 1997.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Guias para o gerenciamento dos riscos sanitários em alimentos**. Rio de Janeiro: Área de Vigilância Sanitária, Prevenção e Controle de Doenças - OPAS/OMS; 2009.

PAQUEREAU, B.; MACHADO, G.; CARVALHO, S. A produção do leite e do queijo se torna cultura. In: PAQUEREAU, B.; MACHADO, G.; CARVALHO, S. **O queijo de coalho em Pernambuco: histórias e memórias**. Garanhuns: E. dos Autores, p. 20-27, 2016.

PEIXOTO, A. M. S.; PRAÇA, E. F.; GÓIS, V. A. A potencialidade microbiológica de coagulação do coalho líquido artesanal. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil)v.2, n.2, p. 52-64, 2007.

QUEIROGA, R. C. R. E.; SANTOS, B. M.; GOMES, A. M. P.; MONTEIRO, M. J.; TEIXEIRA, S. M.; SOUZA, E. L.; PEREIRA, C. J. D.; PINTADO, M. M. E. Nutritional, textural and sensory properties of Coalho cheese made of goats', cows' milk and their mixture. **LWT - Food Science and Technology**, Campinas, v. 50, p. 538-544, 2013.

RINALDI, J.G. S; MORABITO, R. TACHIBANA, V.M. A importância da rapidez de atendimento em supermercados: um estudo de caso. **Gestão & Produção**, São Carlos, v. 16, n. 1, p. 1-14, 2009.

RODRIGUES, M. A.; JUPI, V. S. O comportamento do consumidor: fatores que influenciam em sua decisão de compra. **Revista de Administração Nobel**, n. 3, p. 59-70, 2004.

ROZADOS, H. B. F.; PIFFER, B. P. Pesquisa de Marketing e Estudos de Usuários: um paralelo entre os dois processos. **Em Questão**, v. 15, n. 2, p. 169-182, 2009.

SEBRAE – SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO AS MICRO E PEQUENAS EMPRESAS. **Como montar uma fábrica de queijo artesanal: coalho e manteiga**. Disponível: <http://www.sebrae.com.br/sites/PortalSebrae/ideias/como-montar-uma-fabrica-de-queijo-artesanal-coalho-e-manteiga,6b197a51b9105410VgnVCM1000003b74010aRCRD>> acesso em de maio de 2018.

SOLOMON, M. R. **Comportamento do consumidor: comprando, possuindo e sendo**. Porto Alegre: Bookman, p.445, 2002.

VIANA, J.G.; REVILLION, J.P. Qualidade percebida pelo consumidor de produtos lácteos: modelo teórico e evidências empíricas. **Indústria de Laticínios**, v. 87, p. 72-81, 2010.

VIDAL, R.H.L. **Diagnóstico regional do processo de queijo de coalho comercializado em Natal/RN**. 96p. 2011. Dissertação (Mestre) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011. Disponível em:< http://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/15817/1/RogeriaHLV_DISSERT.pdf >, acesso em 05 de junho de 2015.

8 CONCLUSÕES

As micropartículas de alginato contendo eugenol obtidas através da técnica de gelificação iônica externa apresentaram elevada EE, tamanhos pequenos e uniformidade em relação aos aspectos morfológicos. O eugenol tanto livre quanto encapsulado apresentou atividade frente a *S. aureus*. As micropartículas de eugenol contendo alginato também foram eficientes na inibição bacteriana de *S. aureus*, quando adicionadas em queijo de coalho, sobretudo no 1º e 5º dias de armazenamento quando comparado com o queijo de coalho controle (queijo sem adição de micropartículas).

Quanto aos atributos sensoriais avaliados do queijo de coalho com e sem adição micropartículas de alginato contendo eugenol pode-se evidenciar que ambas as amostras apresentaram similares exceto para o atributo textura (compacidade). Desse modo, pode-se inferir que as micropartículas de alginato adicionadas de eugenol são consideradas uma alternativa natural potencial para a conservação dos alimentos.

REFERÊNCIAS

- ADEFEGHA, S.A.; OKEKE, B.M.; OBOH, G. Antioxidant properties of eugenol, butylated hydroxylanisole, and butylated hydroxyl toluene with key biomolecules relevant to Alzheimer's diseases—In vitro. **Journal of Food Biochemistry**, p. e13276, 2020.
- ANDRADE, A.P.C. et al. Perfil de *Staphylococcus coagulase* positiva e negativa contaminantes de queijo de coalho. **Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical**, 2011.
- ANUPAMA, G.; NETRAVATHI, D. K.; AVINASH, M. Essential oils: A novel source for food preservation. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 8, n. 1, p. 2098-2101, 2019.
- AFFONSO, R. S. et al. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.
- ALFIKRI, F.N. et al. Yield, quality, and antioxidant activity of clove (*Syzygium aromaticum* L.) bud oil at the different phenological stages in young and mature trees. **Scientifica**, v. 2020, p. 1–8, 2020.
- AGUILAR, K. C. et al. Protein adsorption onto alginate-pectin microparticles and films produced by ionic gelation. **Journal of Food Engineering**, v. 154, p. 17–24, 2015.
- AHMAD, A. et al. *In vitro* synergy of eugenol and methyleugenol with fluconazole against clinical *Candida* isolates. **Journal of medical microbiology**, v. 59, n. 10, p. 1178-1184, 2010.
- ALMEIDA S. L. de. et al. Representação da produção e consumo do queijo coalho artesanal. **Revista Interdisciplinar de Gestão Social**, v.2, n.2, p. 26-32 2013.
- ALVES, L. M.C. et al. Qualidade microbiológica do leite cru e de queijo de coalho comercializados informalmente na cidade de São Luís-MA. **Pesquisa em foco**, v.17, n.2, p. 01-13, 2009.
- ANDERSON, W. G.; MCKINLEY, R. S.; COLAVECCHIA, M. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. **North American Journal of Fisheries Management**, v. 17, n. 2, p. 301-307, 1997.
- ANSON, R. Microencapsulation: for enhanced textile performance. **Performance Apparel Markets**, v. 12, n. 12, p. 21-39, 2005.
- AZEREDO, H. M. C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de Alimentos. **Alimento e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 89-97, 2005.
- BAKKALI, F. et al. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BARANCELLI, G. V. et al. Pulsed-Field Gel Electrophoresis characterization of *Listeria monocytogenes* isolates from cheese manufacturing plants in São Paulo, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 173, p. 21-29, 2014.

BARCELOUX, D. G. Medical Toxicology of Natural Substances: Foods, Fungi, Medicinal Herbs, Plants and Venomous Animals. Wiley: Hoboken, 1200 p., 2008.

BENAVIDES, S. et al. Desenvolvimento de alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. **Food Chemistry**, v. 204, p. 77-83, 2016.

BERALDO, C. et al. Eficiência de óleos essenciais de canela e cravo-da-índia como sanitizantes na indústria de alimentos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, p. 436-440, 2013.

BORGES, M. F. et al. *Listeria monocytogenes* em leite e produtos lácteos. **Embrapa Agroindústria Tropical**, 31f. 2009.

BORGES, M. F. et al. Microrganismos patogênicos e indicadores em queijo coalho produzido no Estado do Ceará, **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v.21, n.1, p.31-40, 2003.

BORGES, M. F. et al. Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. **Revista Ciência Rural**, v.38, n.5, p.1431-1438, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. **Portaria nº. 146**, de 7 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, p.3977, 11 de março 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 30, de 26/06/2001**. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Coalho. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis, Unidade de vigilância das Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar. **Doenças Transmitidas por Alimentos**. Brasília, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Instrução normativa nº 60**, de 23 de dezembro de 2019. Diário Oficial da União, Brasília, Distrito Federal, Seção 1, 26 de dezembro de 2019.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. **International journal of food microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CARVALHO, M. G. J. et al. Qualidade microbiológica do queijo de coalho não inspecionado adquiridos em estabelecimentos comerciais de Garanhuns-PE. **Higiene Alimentar**, p. 2065-2070, 2019.

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. *Listeria* spp., Coliformes Totais e Fecais e *E.coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba (Brasil). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n.3, p. 282-287, 2001.

CAVALCANTE, J. F. M. et al. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura lática endógena. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 205-214, 2007.

CAVALCANTE, R. **Cravo da Índia: Planta símbolo da odontologia**. 1ª ed. Rio Branco: Acre, 129p., 2013.

CHAIIEB, K. et al. The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzygium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. **Phytotherapy Research**, v. 21, n.6, p. 501- 506, 2007.

CHANG, M.C. et al. Inducing the cell cycle arrest and apoptosis of oral KB carcinoma cells by hydroxychavicol: Roles of glutathione and reactive oxygen species. **British Journal of Pharmacology**, v. 135, n. 3, p. 619-630, 2002.

CHATTERJEE; BHATTACHARJEE. Use of eugenol-lean clove extract as a flavoring agent and natural antioxidant in mayonnaise: product characterization and storage study. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 8, p. 4945-4954, 2015.

COSTA, A. R. T. et al. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. T.S. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais** v.13 n.2, p.241-242, 2011.

DANTAS, D. S. et. al. Qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado no município de Patos, Estado da Paraíba. **Revista Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 9, n. 3, p. 110-118, 2013.

DA SILVA, A.S. et al. *Listeria monocytogenes* em leite e produtos lácteos no Brasil: Uma revisão. **UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 13, n. 1, p.59-67, 2011.

DA SILVA, F. R. et al. Conservação e controle de qualidade dos queijos: Revisão. **Pubvet**, v. 11, p. 313-423, 2017.

DEHKORDI, N. H. et al. Antibacterial interactions of colloid nanosilver with eugenol and food ingredients. **Journal of food protection**, v. 82, n. 10, p. 1783-1792, 2019.

DELSHADI, R. et al. Micro and nano-encapsulation of vegetable and essential oils to develop functional food products with improved nutritional profiles. **Trends in Food Science & Technology**, v. 104, p. 72-83, 2020.

DE MOURA, S. C. S. R. et al. Stability of Hibiscus Extract Encapsulated by Ionic Gelation Incorporated in Yogurt. **Food and Bioprocess Technology**, v. 12, n. 9, p. 1500–1515, 2019.

DEVI, K. P. et al. Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. **Journal of ethnopharmacology**, v. 130, n. 1, p. 107-115, 2010.

DOLGOPOLOVA, I.; TEUBER, R. Consumers' Willingness to Pay for Health Benefits in Food Products: A Meta-Analysis. **Applied Economic Perspectives and Policy**, v. 40, n. 2, p. 333-352, 2018.

DUARTE, D. A. M. et al. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no Estado do Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 297-302, 2005.

EL ASBAHANI, A. et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International journal of pharmaceutics**, v. 483, n. 1-2, p. 220-243, 2015.

ESCOBAR, R. G. Eugenol: propiedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso. **Rev Cubana Estomatol**, v. 39, n. 2, 2002.

FAVARO-TRINDADE, C. S.; PINHO, S. C.; ROCHA, G. A. Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.11, n.2, p.103-112, 2008.

FERREIRA, L. P. C. **Microencapsulação de extrato de beterraba pelo processo de gelificação iônica**. 2018. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Nutrição) - Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, 2018.

FONTAN, G. C. R. **Queijo de coalho light: produção, caracterização físico-química, sensorial e reológica**. 97f. 2013. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

FUJISAWA, D. I. R. **Potencial antifúngico de duas formulações contendo própolis tipificadas e óleo essencial vegetal para uso como conservante natural em alimentos**. 88f. 2014. Dissertação (Mestrado Profissional em Farmácia), Universidade Anhanguera de São Paulo, São Paulo, 2014.

FUJISAWA, S. et al. Antioxidant and prooxidant action of eugenol-related compounds and their cytotoxicity. **Toxicology**, v. 177, n. 1, p. 39-54, 2002.

FUJIWARA, G. M. et al. Production and characterization of alginate-starch-chitosan microparticles containing stigmasterol through the external ionic gelation technique. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 3, p. 537-547, 2013.

GAVAHIAN, M et al. Essential oils as natural preservatives for bakery products: Understanding the mechanisms of action, recent findings, and applications. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 60, n. 2, p. 310-321, 2020.

GEBHARDT, B. et al. Assessing the sustainability of natural and artificial food colorants. **Journal of Cleaner Production**, v. 260, p. 1-20, 2020.

GHARSALLAOUI, A. et al. Applications of spray drying in microencapsulation of food ingredients: an overview. **Food Research International**, v. 40, p. 1107-1121, 2007.

GILL, A. O.; HOLLEY, R. A. Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 111, n. 2, p. 170–174, 2006.

GÜLÇİN, İ.; ELMASTAŞ, M.; ABOUL-ENEIN, H. Y. Antioxidant activity of clove oil—A powerful antioxidant source. **Arabian Journal of chemistry**, v. 5, n. 4, p. 489-499, 2012.

HASSOUN, A.; ÇOBAN, Ö. E. Essential oils for antimicrobial and antioxidant applications in fish and other seafood products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 68, p. 26-36, 2017.

HEMAISWARYA, S.; DOBLE, M. Synergistic interaction of eugenol with antibiotics against Gram negative bacteria. **Phytomedicine**, v. 16, n. 11, p. 997-1005, 2009.

HOLKEM, A. T. et al. Microencapsulação de probióticos por gelificação iônica interna. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 5, p. 125-131, 2015.

HONORATO, T. C. et al. Aditivos alimentares: aplicações e toxicologia. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 8, n. 5, p. 1- 11, 2013.

HOSSEINI, M. et al. The antibacterial and antioxidant effects of clove (*Syzygium aromaticum*) and lemon Verbena (*Aloysia citriodora*) essential oils. **Journal of Human, Environment and Health Promotion**, v. 5, n. 2, p. 86-93, 2019.

IRKIN, R.; ESMER, O. K. Novel food packaging systems with natural antimicrobial agents. **Journal of food science and technology**, v. 52, n. 10, p. 6095-6111, 2015.

IVANEK, R.; GRÖHN, Y. T.; WIEDMANN, M. *Listeria monocytogenes* em múltiplos habitats e populações hospedeiras: revisão dos dados disponíveis para modelagem matemática. **Foodborne Pathogens & Disease**, v. 3, n. 4, p. 319-336, 2006.

KARIMIRAD, R.; BEHNAMIAN, M.; DEZHSETAN, S. Bitter orange oil incorporated into chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and their potential application on antioxidant and antimicrobial characteristics of white button mushroom. **Food Hydrocolloids**, v. 100, p. 105387, 2020.

- KERWIN, B. A. Polysorbates 20 and 80 used in the formulation of protein biotherapeutics: structure and degradation pathways. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 97, n. 8, p. 2924-2935, 2008.
- KUANG, S. S.; OLIVEIRA, J. C.; CREAN, A. M. Microencapsulation as a tool for incorporating bioactive ingredients into food. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 50, n. 10, p. 951-968, 2010.
- LIANG, Y et al. Algal biorefineries. In: **Industrial Biorefineries & White Biotechnology**. Elsevier. p. 35-90, 2015.
- LIMA, A. F. **Staphylococcus coagulase-positiva e enterotoxinas em queijo de coalho**. 2005. 86f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, 2005.
- MACHADO, T. F.; BORGES, M. F.; BRUNO, L. M. Aplicação de Antimicrobianos Naturais na Conservação de Alimentos. **EMBRAPA Agroindústria Tropical**. Fortaleza, 2011.
- MACHADO, E. C. L. et al. Synergistic effect of phytochemicals in vitro and their antimicrobial properties against food-borne microorganisms in “coalho” cheese. In: A. Méndez-Vilas. (Org.). **The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs**. 15ed. Espanha: Formatex Research Center, v. 1, p. 221-227, 2015.
- MANTOVAN, J. et al. Nanomaterials for nutraceuticals and preservative agents. In: **Research and Technological Advances in Food Science**. Academic Press, p. 425-445, 2022.
- MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Brazilian Journal of Botany**, v. 26, p. 231-238, 2003.
- MEDEIROS, R. S. et al. Identification of lactic acid bacteria isolated from artisanal Coalho cheese produced in the Brazilian Northeast. **CyTA-Journal of Food**, v. 14, n. 4, p. 613-620, 2016.
- MIRANDA, G. R. et al. Queijos artesanais: qualidade físico-química e microbiológica e avaliação das condições higiênico-sanitárias dos manipuladores e ambiente de produção. **Extensão Rural**, v.23, n.1, p.78-92, 2016.
- MORAIS, S. M. de et al. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, p. 315-320, 2009.
- MÜLLER, J. M.; SANTOS, R. L.; BRIGIDO, R.V. Produção de alginato por microrganismos. **Polímeros**, v. 21, p. 305-310, 2011.
- NACHAY, K. Clean Label Approaches to Food Safety. **Food Technology**, v. 71, n. 11, p. 53-63, 2017.
- NAGABABU, E. et al. Assessment of antioxidant activity of eugenol in vitro and in vivo. **Free Radicals and Antioxidant Protocols**, p. 165–180, 2010.

- NATRAJAN, D. et al. Formulation of essential oil-loaded chitosan e alginate nanocapsules. **Journal of food and drug analysis**, v.23, p. 23, 560- 568, 2015.
- NEDOVIC, V. et al. An overview of encapsulation technologies for food applications. **Procedia Food Science**, v. 1, p. 1806-1815, 2011.
- NESTERENKO, A. et al. Vegetable proteins in microencapsulation: a review of recent interventions and their effectiveness. **Industrial Crops and Products**, v. 42, p. 469-479, 2013.
- OLIVEIRA, D. F. et al. Caracterização físicoquímica de queijos Minas artesanal produzidos em diferentes microrregiões de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Economia Doméstica**, v. 24, n. 2, p. 185-196, 2013.
- OLIVEIRA, J. P. F. et al. Aspectos da comercialização de derivados lácteos em supermercados, padarias e lojas de conveniência do setor varejista de Natal/RN. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, v.3, n.3, p.197-212, 2010.
- OLIVEIRA, R. A. et al. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p. 771-775, 2009.
- OYEDEMI, S. O. et al. The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol, α -terpineol and g-terpinene against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 7, p. 1280-1286, 2009.
- PARISI, A. et al. Occurrence of *Listeria* spp. in dairy plants in Southern Italy and molecular subtyping of isolates using AFLP. **Food Control**, v. 29, n. 1, p. 91-97, 2013.
- PAQUEREAU, B.; MACHADO, G.; CARVALHO, S. A produção do leite e do queijo se torna cultura. In: PAQUEREAU, B.; MACHADO, G.; CARVALHO, S. **O queijo de coalho em Pernambuco: histórias e memórias**. Engenho Comunicação, p. 20-27, 2016.
- PATIL, J.S. et al. Ionotropic gelation and polyelectrolyte complexation: The novel techniques to design hydrogel particulate sustained, modulated drug delivery system: A review. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 5, n. 1, p. 241–248, 2010.
- PEREIRA, T. M. F. et al. *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp. em queijos de coalho artesanais produzidos em São Rafael, Rio Grande do Norte. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 12, n. 2, p. 358-361, 2017.
- PEREIRA, A. A. et al. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.3, p.887-93, 2008.

PEREIRA, K. C. et al. Microencapsulação e liberação controlada por difusão de ingredientes alimentícios produzidos através da secagem por atomização: revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, e2017083, 2018.

PERNAMBUCO. **Lei nº 16.312**, de 11 de janeiro de 2018. Diário Oficial do Estado de Pernambuco, Recife, 2018.

PRIEFERT, H.; RABENHORST, J.; STEINBUCHER, A. Biotechnological production of vanillin. **Applied Microbiology Biotechnology**, v. 56, p. 296-314, 2001.

RABÊLO, W. F. et al. Caracterização química, toxicidade e avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial do cravo da índia (*Syzygium aromaticum*). 2010. 79 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Maranhão, São Luiz, MA, 2010.

RADÜNZ, M. Óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*, L.): extração, encapsulação, potencial antimicrobiano e antioxidante. 2017. 148 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2017.

RADÜNZ, M. et al. Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. **Food chemistry**, v. 276, p. 180-186, 2019.

RAMOS, E. ET AL. **Antimicrobianos em ginecologia e obstetrícia**. Porto Alegre: Artmed, 373 p., 2007.

RAY, S.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. An overview of encapsulation of active compounds used in food products by drying technology. **Food Bioscience**, v.13, p.76–83, 2016.

REBELLO, F. F. P. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Revista Agrogeoambiental**, v. 1, n. 3, p. 134-144, 2009.

RESENDE, D.B. et al. Synthesis and *in vitro* evaluation of peracetyl and deacetyl glycosides of eugenol, isoeugenol and dihydroeugenol acting against food-contaminating bacteria. **Food Chemistry**, v.237, p.1025-1029, 2017.

ROCHA, L. C. R. **Desenvolvimento de micropartículas contendo suco de tomate via gelificação iônica**. 2017. 87 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Biomateriais) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2017.

RUDOLF, M.; SCHERER, S. High incidence of *Listeria monocytogenes* in European red smear cheese. **International journal of food microbiology**, v. 63, n. 1-2, p. 91-98, 2001.

SALOTTI, B. M. et al. Qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 2, p. 171-175, 2006.

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

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 654-658, 2009.

SCHOUBEN, A. et al. Development of a scalable procedure for fine calcium alginate particle preparation. **Chemical Engineering Journal**, v. 160, n. 1, p. 363-369, 2010.

SCOPEL, R. et al. Supercritical fluid extraction from *Syzygium aromaticum* buds: Phase equilibrium, mathematical modeling and antimicrobial activity. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 92, p. 223-230, 2014.

SEBRAE- Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Queijos Nacionais: estudos de mercado**. SEBRAE/ESPM. SEBRAE, 2008.

SHARMA, A. et al. Eugenol. In: **Nutraceuticals and Health Care**. Academic Press, p. 177-198, 2022.

SILVA, M. C. D. et al. Influência dos procedimentos de fabricação nas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de queijo de Coalho. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.69, n.2, p.214-221, 2010.

SILVA, P. T. et al. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology. **Ciência Rural**, v. 44, p. 1304-1311, 2014.

SILVA SANTOS, A. et al. A participação da indústria óleo- citrícola na balança comercial brasileira. **Revista Brasileira Plantas Medicinais**, v.8, n.4, p. 8-13, 2006.

SILVESTRI, J. D. F. et al. Chemical composition and antioxidant and antibacterial activities of clove essential oil (*Eugenia caryophyllata* Thunb). **Revista Ceres**, v. 57, n.5, p. 589-594, 2010.

SIMÕES, C. M. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento 6 a. ed.; UFRGS: Porto Alegre, 2007.

SOUZA, E.L.; LIMA, E.O.; NARAIN, N. Especiarias: uma alternativa para o controle de qualidade sanitária e de vida útil de alimentos, frente às novas perspectivas da indústria alimentícia. **Higiene alimentar**, v. 17, n. 113, p. 38-40, 2003.

STASHENKO, E. R.; MARTINEZ, R. J. Identification of Essential Oil Components. HASHEMI, S. M.; KHANEGHAH, A. M.; SANT'ANA, A. D. In: **Essential Oils in Food Processing: Chemistry, Safety and Applications**. Campinas/SP: Wiley Blackwell, 2018.

STEURER, F. **Especiarias: aplicações e propriedades**. 2008. 31f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química de Alimentos), Universidade Federal de Pelotas, Rio Grande do Sul, 2008.

TAJKARIMI, M. M.; IBRAHIM, S. A.; CLIVER, D. O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. **Food control**, v. 21, n. 9, p. 1199-1218, 2010.

VALANI, G. M.; Bianchi, I. *Listeria monocytogenes* em produtos lácteos e silagem animal. **Revista Científica Dimensão Acadêmica**, v. 2, p. 6-20, 2017.

VIDAL, R. H. L. **Diagnóstico regional do processo de queijo de coalho comercializado em Natal/RN**. 96p. 2011. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2011.

WALSH, S. E. et al. Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and-negative bacteria. **Journal of applied microbiology**, v. 94, n. 2, p. 240-247, 2003.

XU, J. G. et al. Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against *Staphylococcus aureus*. **Molecules**, v. 21, p. 1-13, 2016.

ZIA, K. M. et al. Alginate based polyurethanes: A review of recent advances and perspective. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 79, p. 377–387, 2015.

ANEXO

Portal do Governo Brasileiro

Plataforma Brasil

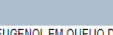
[Principal](#) [Sair](#)

[Público](#) [Pesquisador](#) [Alterar Meus Dados](#)

Cadastros

Dayane de Melo Barros - Pesquisador | V3.2

Sua sessão expira em: 38min 39

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA	
DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA	
Título da Pesquisa: EFEITO DE ENCAPSULAMENTO NA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E INFLUÊNCIA ORGANOLÉPTICA DE MICROPARTÍCULAS DE EUGENOL EM QUEIJO DE COALHO	
Pesquisador Responsável: Dayane de Melo Barros	
Área Temática:	
Versão: 2	
CAAE: 50294521.8.0000.9430	
Submetido em: 24/08/2021	
Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO	
Situação da Versão do Projeto: Aprovado	
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável	
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio	
	
Comprovante de Recepção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_1781685	