

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MINAS
GERAIS – *CAMPUS* BAMBUÍ

BACHARELADO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

Julimara Santos Silva

**DESENVOLVIMENTO DE FILME BIODEGRADÁVEL COM ADIÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE *Pimenta dioica***

BambuÍ

2023

JULIMARA SANTOS SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE FILME BIODEGRADÁVEL COM ADIÇÃO DE ÓLEO
ESSENCIAL DE *Pimenta dioica***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso Bacharelado em
Engenharia de Alimentos do Instituto
Federal de Minas Gerais - *Campus*
BambuÍ para obtenção do grau de
Bacharel em Engenharia de Alimentos.

BambuÍ

2023

Catálogo na Fonte Biblioteca IFMG - Campus Bambuí

S586d Silva, Julimara Santos.
Desenvolvimento de filme biodegradável com adição de óleo essencial de *Pimenta dioica*. / Julimara Santos Silva. – 2023.
45 f.; il.: color.

Orientadora: Alcilene de Abreu Pereira.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus Bambuí, MG, Curso Bacharelado em Engenharia de Alimentos, 2023.

1. Filmes biodegradáveis. 2. Óleo essencial. 3. Pimenta dioica. I. Pereira, Alcilene de Abreu. II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus Bambuí, MG. III. Título.

CDD 664



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE MINAS GERAIS
Campus Bambuí
Diretoria de Ensino
Departamento de Ciências e Linguagens
Faz. Varginha - Rodovia Bambuí/Medeiros - Km 05 - Caixa Postal 05 - CEP 38900-000 - Bambuí - MG
37 3431 4900 - www.ifmg.edu.br

DECLARAÇÃO

JULIMARA SANTOS SILVA

DESENVOLVIMENTO DE FILME BIODEGRADÁVEL COM ADIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Pimenta dioica*

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Bacharelado em Engenharia de Alimentos do Instituto Federal de Minas Gerais - *Campus* Bambuí para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Aprovado em: 22/06/2023 pela banca examinadora:

Prof^a Alcilene de Abreu Pereira - IFMG Bambuí (Orientadora)

Prof^a Amanda Camilo Graciano - IFMG Bambuí

Prof Jonas Guimarães e Silva - IFMG Bambuí



Documento assinado eletronicamente por **Alcilene de Abreu Pereira, Professora**, em 05/07/2023, às 15:41, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Amanda Camilo Graciano, Professora Substituta**, em 05/07/2023, às 16:19, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Jonas Guimaraes E Silva, Professor**, em 05/07/2023, às 16:35, conforme Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

Declaração 1605488 SEI 23209.003968/2022-71 / pg. 1



A autenticidade do documento pode ser conferida no site <https://sei.ifmg.edu.br/consultadoes> informando o código verificador **1605488** e o código CRC **5757C857**.

Dedico este trabalho à minha querida mãe, que esteve ao meu lado em todos os momentos, tanto bons quanto ruins. Te amo, minha rainha! E ao meu eterno Pai, que já não está mais entre nós, mas que ficaria orgulhoso de ver que cheguei até aqui. Te amarei eternamente!

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por todas as bênçãos recebidas e por nunca me abandonar em momentos de dificuldade. Sou muito grata por ter saúde e pela oportunidade de alcançar meus objetivos, sempre de maneira honesta. Mesmo enfrentando algumas situações em que duvidei do meu potencial, nunca desisti, por mais difícil que tenha sido hoje meu sonho se torna realidade.

À minha mãe, Márcia, sou extremamente grata por tudo que ela fez e continua fazendo por mim. Agradeço por todo o amor, carinho, dedicação, apoio e conselhos que recebi ao longo da minha vida. Hoje, posso dizer que esse sonho se tornou realidade graças a Deus e a senhora. Espero um dia poder retribuir toda essa dedicação que sempre teve comigo. Tenho uma grande admiração pela senhora, pois é uma pessoa honesta, trabalhadora, com um coração enorme e está sempre disposta a ajudar o próximo. Eu te amo muito, minha rainha.

Aos meus irmãos Juliana e Júlio César, que sempre estiveram comigo nos momentos de dificuldade, me incentivando a não desistir, e sim persistir e ir em busca dos meus sonhos.

A minha família, agradeço por todo apoio, ajuda e cada oração que fizeram para eu não desistir.

A minha orientadora professora Alcilene, por sempre estar disposta a esclarecer minhas dúvidas, por toda ajuda e conselhos. Agradeço também por ter aceitado o convite para ser minha orientadora, tenho plena confiança de que fiz uma excelente escolha.

À banca composta pela professora Amanda e pelo professor Jonas, agradeço imensamente por cada ensinamento que recebi ao longo do curso. Agradeço também por terem aceitado o convite para compor a minha banca de defesa.

A todos os professores e laboratoristas do IFMG *Campus* Bambuí, gostaria de expressar minha profunda gratidão por toda a ajuda e apoio que recebi para concluir este trabalho, o qual foi um grande desafio para mim. Agradeço a cada um de vocês pelo seu comprometimento e dedicação.

Ao IFMG *Campus* Bambuí, gostaria de expressar minha gratidão por toda a estrutura e suporte que forneceram, permitindo-me desenvolver este trabalho e concluí-lo com sucesso.

Por fim, gostaria de expressar minha gratidão aos amigos, companheiros, colegas e a todos aqueles que participaram da minha jornada e, de alguma maneira, me apoiaram para que eu pudesse chegar até aqui. Sou extremamente grata a cada um de vocês.

“Só vive o propósito quem suporta o processo”

Romanos 5: 3-4

RESUMO

O impacto ambiental causado pelas embalagens tem aumentado o interesse pelo uso de materiais biodegradáveis como alternativa de substituição das embalagens convencionais. Dentre esses materiais, aqueles derivados de amido, têm despertado atenção à sua biodegradabilidade, baixo custo e fácil obtenção. O amido, em particular, é um dos polissacarídeos mais promissores e estudados no desenvolvimento de biopolímeros. O queijo é um veículo de transmissão de doenças, como as intoxicações alimentares requerem cuidados rigorosos desde a sua produção até o armazenamento. Diante do exposto, este trabalho objetivou desenvolver filmes de amido com adição de óleo essencial de pimenta da Jamaica para a conservação de queijo minas artesanal Canastra. Os filmes foram produzidos utilizando uma formulação de 3g de amido de milho, 0,9g de glicerol em 100 mL de água destilada, e diferentes concentrações de óleo essencial foram adicionados a essa solução, resultando em cinco tratamentos. As soluções foram aquecidas a 95°C por 15 minutos para gelatinizar o amido. Em seguida, a suspensão formada foi vertida em placas de Petri e levada a uma estufa a 35°C para evaporação do solvente. Os filmes foram cuidadosamente removidos manualmente das placas evitando contaminação e danos à sua estrutura. Posteriormente, foram utilizados para embalar pedaços de queijos, a fim de realizar as análises. Realizou-se as análises microbiológicas nos tempos de 0, 7 e quatorze dias com o objetivo de avaliar a eficiência dos filmes biodegradáveis como agentes antimicrobianos, com adição do óleo essencial de pimenta da Jamaica, contra microrganismos aeróbios mesófilos. No entanto conclui-se que os filmes apresentaram algum efeito, porém não mostraram uma efetividade significativa na conservação do queijo.

Palavras-chave: Filmes biodegradáveis. Óleo essencial. *pimenta dioica*. Crescimento microbiano. Amido de milho.

ABSTRAT

The environmental impact caused by packaging has increased interest in the use of biodegradable materials as an alternative to replacing conventional packaging. Among these materials, those derived from starch have drawn attention to their biodegradability, low cost and easy obtainment. Starch, in particular, is one of the most promising and studied polysaccharides in the development of biopolymers. Cheese, being a vehicle for transmitting diseases such as food poisoning, requires strict care from production to storage. In view of this, this work aimed to develop starch films with the addition of pimenta dioica essential oil for the conservation of artisanal Canasta minas cheese. The films were produced using a formulation of 3g of corn starch, 0.9g of glycerol in 100 mL of distilled water, and different concentrations of essential oil were added to this solution, resulting in five treatments. The solutions were heated at 95°C for 15 minutes to gelatinize the starch. Then, the suspension formed was poured into Petri dishes and taken to an oven at 35°C for solvent evaporation. The films were carefully manually removed from the plates, avoiding contamination and damage to their structure. Subsequently, they were used to pack pieces of cheese in order to carry out the analyses. Microbiological analyzes were carried out at times of 0, 7 and fourteen days in order to evaluate the efficiency of biodegradable films as antimicrobial agents, with the addition of allspice essential oil, against mesophilic aerobic microorganisms. However, it is concluded that the films had some effect, but did not show a significant effectiveness in the conservation of the cheese.

Keywords: Biodegradable films. Essential oil. Dioecious pepper. Microbial growth. Maize starch.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Justificativa.....	13
1.2 Objetivos.....	14
1.2.1 Objetivo geral.....	14
1.2.2 Objetivos específicos.....	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 Histórico da Indústria de embalagens.....	15
2.2 Principais propriedades de uma embalagem de alimento.....	15
2.3 Utilização da embalagem torna-se sustentável.....	16
2.4 Embalagens biodegradáveis.....	17
2.5 Aplicação dos filmes de amido.....	18
2.6 Amido.....	18
2.7 Técnica de casting.....	20
2.8 Plastificantes (Glicerol).....	20
2.9 Queijo Minas Artesanal Canastra.....	21
2.10 Microrganismos que contaminam os queijos.....	22
2.11 Defeitos causados pelos microrganismos nos queijos.....	23
2.12 A pimenta da Jamaica (pimenta dioica Lindl).....	24
2.13 Óleo essencial.....	25
2.14 Óleo essencial de pimenta da Jamaica e seus benefícios.....	25
2.15 Fatores que influenciam na composição química dos óleos essenciais.....	26
2.16 Uso dos óleos essenciais no controle microbiológico dos alimentos.....	28
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
3.1 Pré-teste.....	29
3.2 Produção do filme.....	29
3.3 Secagem dos filmes.....	30
3.4 Aplicação do filme.....	31
3.5 Análises Microbiológicas e Análise Estatística.....	32
3.6 Coloração de Gram.....	33
4 RESULTADO E DISCUSSÃO.....	34
4.1 Análise Estatística.....	36
4.2 Coloração de Gram.....	37
5. CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS.....	40
APÊNDICE A - Análise Estatística.....	45

1. INTRODUÇÃO

Segundo a legislação brasileira de 1998, a embalagem é o recipiente, o pacote ou o envoltório destinado a garantir a conservação e facilitar o transporte e manuseio do alimento. Para tanto, há algum tempo, acreditava-se que deveria haver uma interação mínima entre a embalagem e o produto (BRASIL,1998).

Ao comparar a atualidade com o passado, é notável o grande avanço da tecnologia, especialmente no setor alimentício. A embalagem é um elemento fundamental para garantir a qualidade dos alimentos e sua durabilidade. Nesse sentido, a ciência dos alimentos, por meio de pesquisas, visa não apenas proteger e manter a qualidade do alimento, mas também promover a inovação de tipos de embalagens menos prejudiciais ao meio ambiente.

Os alimentos possuem uma composição única que favorece o desenvolvimento microbiano. Quando combinado com métodos inadequados de processamento e armazenamento, isso pode permitir a proliferação de inúmeras espécies patogênicas indesejáveis para o alimento e, principalmente, para a saúde do consumidor. Diante dessa realidade e da busca por novas técnicas de preservação natural dos alimentos, o uso de filmes contendo óleos essenciais emerge como um possível sistema de conservação. Esses filmes podem prolongar a vida útil dos alimentos e manter sua alta qualidade, de acordo com suas propriedades (TRAJANO *et al.*, 2009).

Produtos perecíveis, como o queijo, precisam ser protegidos contra o crescimento microbiano durante o armazenamento. Para garantir a qualidade e a segurança desses alimentos, têm sido estudadas técnicas alternativas de preservação. Uma nova tendência na indústria alimentícia é o uso de embalagens que visam aumentar a margem de segurança.

Algumas frações do óleo essencial (OE) da pimenta da Jamaica têm demonstrado eficácia contra uma variedade de bactérias patogênicas encontradas em alimentos. O principal componente presente no OE da pimenta da Jamaica é o eugenol, o qual é responsável por muitos dos benefícios antibacterianos e antioxidantes. Além disso, a pimenta da Jamaica possui um alto valor nutricional, a qual é rica em vitaminas A, B6, B1, B2, C, beta-caroteno, niacina, e minerais como ferro, cobre, manganês e potássio (RODRIGUES, 2022).

1.1 Justificativa

Diante do exposto, esse estudo se justifica pelo fato de que, ao longo do tempo, a humanidade tem explorado elementos extraídos de plantas para uso em terapias, porém esses elementos não eram tão conhecidos. Atualmente, observa-se um aumento significativo no uso de óleos essenciais e embalagens biodegradáveis para proteger os alimentos.

O interesse por este estudo surgiu a partir de uma apresentação na disciplina de química de alimentos sobre os óleos essenciais, que despertou minha atenção e me motivou a explorar o seu uso em um projeto próprio.

Por morar em um dos sete municípios que fazem parte da Serra da Canastra, tenho um carinho especial pelo queijo produzido nesta região. Durante a pandemia, com o aumento do comércio online, os comerciantes enfrentaram dificuldades para conservar os queijos e mantê-los com as mesmas características do produto. Recentemente, o queijo Canastra tem recebido maior atenção mundial, e devido a isso gostaria que todas as pessoas do país pudessem apreciar essa deliciosa iguaria com a mesma qualidade e sabor que ele apresenta aqui na Serra. Unindo o útil ao agradável, foi aí que surgiu a ideia da embalagem biodegradável adicionada com óleo essencial de pimenta da Jamaica.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo geral

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de filmes biodegradáveis atuando como agente antimicrobiano com adição de óleo essencial da *pimenta dioica* L. (pimenta da jamaica), na conservação do queijo Minas Artesanal Canastra.

1.2.2 Objetivo específicos

- Elaborar filmes de amido incorporados com óleo essencial da pimenta da Jamaica em diferentes concentrações;
- Avaliar o efeito dos filmes na conservação do queijo Minas Artesanal Canastra;
- Verificar o efeito do óleo essencial sobre microrganismos;
- Concluir se a embalagem foi eficaz.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Histórico da Indústria de embalagens

Desde o início da civilização, a embalagem tem sido a solução para suprir as necessidades cada vez mais complexas da sociedade, atendendo aos seus desejos. Com o intuito de proteger e transportar o conteúdo de forma eficiente, a embalagem foi aprimorada com novos materiais e tecnologias de produção, garantindo que chegue ao destino em perfeitas condições. De acordo com a Associação Brasileira de Embalagem, a indústria de embalagens tem utilizado uma série de avanços tecnológicos para produzir uma ampla variedade de produtos, embalando todos os tipos de mercadorias (ABRE, 2009).

Hoje em dia, as indústrias que processam metais, celulose, plásticos, vidro, madeira e fibras têxteis produzem milhares de tipos diferentes de embalagens em todo o mundo. Além de desempenhar sua função básica, a embalagem também desempenha um papel importante no *marketing* desde a revolução industrial. Com a produção em massa, os fabricantes passaram a "decorar" seus produtos para torná-los mais atraentes aos consumidores. Dessa forma, a embalagem se tornou uma poderosa ferramenta de *marketing*, adicionando valor e significado aos produtos, tornando-os mais atrativos e desejáveis aos consumidores (SOUZA, 2011).

Novas matérias-primas são constantemente desenvolvidas e incorporadas às embalagens existentes, sempre com o objetivo de oferecer ao consumidor produtos de alta qualidade.

2.2 Principais propriedades de uma embalagem de alimentos

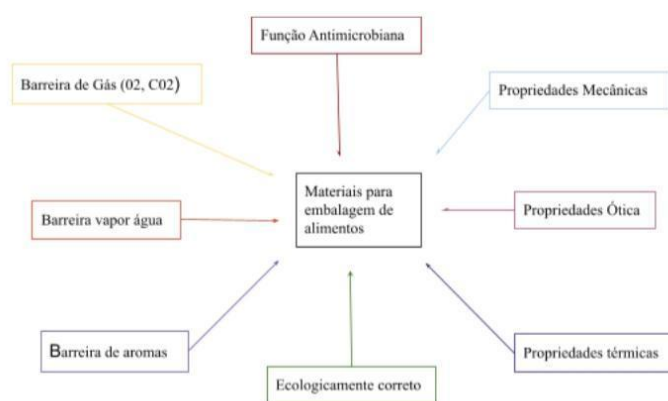
As embalagens de alimentos atendem a três funções básicas: contenção, manter a qualidade e proteção contra agentes ambientais, físicos e microbiológicos que provocam deterioração. Devido às mudanças nas preferências e nos consumidores, a embalagem passou a ter um papel mais relevante do que apenas sua função básica. Agora, também ajuda a prolongar a vida útil e serve como um indicador da qualidade dos alimentos embalados (BHARGAVA; SHARANAGAT; MOR; KUMAR, 2020).

Viégas (2016) destaca que não servem apenas como recipientes, também é usado para evitar ou pelo menos minimizar a troca de umidade e gases entre os alimentos e o

ambiente. Esses tipos de embalagens comprovam a qualidade e segurança dos produtos alimentícios durante o armazenamento e transporte, bem como a capacidade de prolongar a vida útil dos alimentos, em condições tais como a deterioração de microrganismos, produtos químicos, umidade, luz, etc. Para cumprir essas funções, os materiais de embalagem garantem condições físicas e criam condições físico-químicas adequadas para os produtos.

A Figura 1 mostra as principais propriedades necessárias para materiais de embalagens de alimentos.

Figura 1: Propriedades gerais necessárias para materiais de embalagens de alimentos.



Fonte: Autor, 2023.

2.3 Utilização da embalagem torna-se sustentável

Segundo Granato, Fischer e Van Trijp (2022) da produção ao consumo, todo o sistema alimentar, incluindo abastecimento, processamento, transporte e embalagem, contribui para um terço do total de emissões de gases de efeito estufa que contribuem para o aquecimento global e a crise ambiental geral.

Atualmente, o impacto ambiental dos resíduos de embalagens plásticas tornou-se uma grande preocupação global devido às opções limitadas de descarte. Há uma crescente preocupação com o impacto ambiental e o esgotamento dos recursos naturais causados pelos materiais de embalagens plásticas não biodegradáveis. Além disso, surgiram questões de segurança alimentar devido à crescente demanda por materiais de embalagem biodegradáveis obtidos a partir de recursos renováveis, como os biopolímeros. Esses materiais são considerados alternativas aos materiais de embalagem de plástico sintético, especialmente

para embalagens de curto prazo e aplicações de uso único, como talheres descartáveis, pratos descartáveis, copos e utensílios (BOZ; KORHONEN; SAND, 2020).

A importância da sustentabilidade da embalagem é examinada do ponto de vista das definições formais, da cadeia de valor da embalagem, dos impactos ambientais e da cadeia de valor alimentar. Em muitos casos, embalagens sustentáveis são consideradas como materiais de origem sustentável ou podem ser usados, como materiais recicláveis ou compostáveis, enquanto outros critérios, como eficiência econômica e impacto social, são frequentemente ignorados tornando-se enganosos para a comunicação do consumidor (BOZ; KORHONEN; SAND, 2020).

Descreveu-se Granato, Fischer e Van Trijp (2022) que várias empresas, incluindo McDonald's, Unilever, Nestlé, Kraft-Heinz, PepsiCo e Coca-Cola, estabelecem metas em planos de ação para melhorar a sustentabilidade de suas embalagens até 2025, e além de incluir maior reciclagem e material reciclado, reduz o material virgem composição, fornecimento sustentável, redução de peso, design de embalagem para melhor recuperação, etc.

Com o aumento do consumo na sociedade capitalista, as empresas empregam cada vez mais estratégias para conquistar os consumidores. Indústrias de embalagens adaptam sua produção conforme os problemas ambientais aumentam, buscando processos e produtos sustentáveis.

A embalagem sustentável tem se mostrado uma ferramenta estratégica de *marketing* para promoção de marcas e produtos, pois é um dos fatores que influenciam a decisão de compra. Estratégias mais comumente usadas na indústria de embalagens incluem o uso de embalagens recicláveis, polímeros verdes e biodegradáveis (LANDIM *et al.*, 2016).

2.4 Embalagens biodegradáveis

Os bioplásticos de origem renovável pertencem a uma geração de plásticos com potencial para reduzir significativamente o seu impacto ambiental em termos de consumo de energia e resíduos gerados, ou seja, comporta-se como o plástico tradicional, mas seu diferencial é ser totalmente biodegradável durante o ciclo de compostagem (BALAN, 2013).

Filmes biodegradáveis (Figura 2) são filmes finos feitos de materiais biológicos, atuando como uma barreira para os elementos externos e, portanto, protege os produtos embalados de danos físicos e biológicos prolongando sua vida útil. Fisicamente o filme não é

pegajoso ou viscoso, mas brilhantes e transparentes, por não ser tóxico pode ser comestível. Podendo ser removido com água (NASCIMENTO, 2021).

Ao contrário das tradicionais, que permanecem inalteradas por longos períodos de tempo, a ação microbiana as decompõe em seus componentes mais simples ao entrar em contato com o solo, umidade, ar e luz solar. Nesse caso, os óleos essenciais podem desempenhar um papel importante na garantia da segurança dos alimentos. Dessa forma, a adição de compostos bioativos como antimicrobianos em embalagens pode representar uma nova estratégia para aprimorar a segurança e prolongar a vida útil dos alimentos prontos para consumo (LARANJEIRA,2021).

Figura 2: Filme biodegradável.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

2.5 Aplicação dos filmes de amido

De acordo com Balan (2013) a aplicação comercial de filmes de amido e outros biopolímeros em alimentos ainda são limitadas e dependem de vários fatores como preço, processo de fabricação e propriedades desses materiais. O custo deste tipo de embalagem é superior ao das embalagens tradicionais, como por exemplo, de polietileno, no entanto, os consumidores estão mais atentos em relação ao meio ambiente, e muitas vezes aceitam preços mais altos em favor da proteção ambiental.

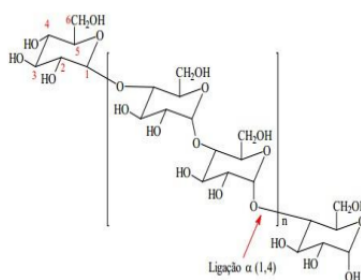
2.6 Amido

O amido é a principal reserva de energia das plantas fotossintéticas e, juntamente com a celulose, é uma das fontes mais ricas de carboidratos. Muitas plantas contêm amido, mas aqueles mais utilizados industrialmente são provenientes de sementes, tubérculos e raízes, como mandioca, milho e batata. Os grânulos de amido consistem em uma mistura de

dois compostos: amilose e amilopectina, cujas proporções também são determinadas pela origem vegetal (OLIVEIRA, 2014).

A amilose (Figura 3) é um polissacarídeo composto por unidades de D-glicose unidas por ligações glicosídicas α 1-4, formando um polímero helicoidal linear com pesos moleculares, os quais variam de 10^5 a 10^6 g/mol (OLIVEIRA, 2014).

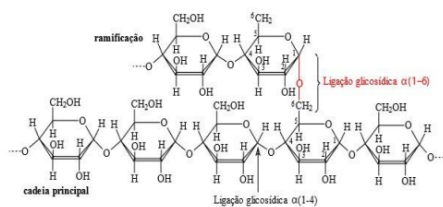
Figura 3: Amilose



Fonte: (OLIVEIRA, 2014).

A amilopectina (Figura 4) é uma macromolécula menos solúvel em água do que a amilose e consiste em unidades de D-glicose ligadas por ligações glicosídicas α 1-4. Ela difere da amilose porque cerca de 4 a 5% dessas unidades de D-glicose também possuem ligações glicosídicas do tipo α 1-6 com outras unidades de D-glicose, resultando em uma estrutura ramificada do polímero de alto peso molecular, que pode atingir aproximadamente 10^8 g/mol (OLIVEIRA, 2014).

Figura 4: Amilopectina.

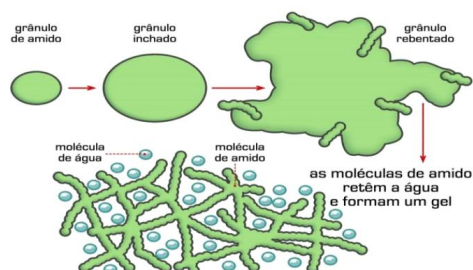


Fonte: (OLIVEIRA, 2014).

A gelatinização do amido (Figura 5) também pode ser obtida por meio de processamento em baixas temperaturas, principalmente utilizando agentes alcalinos e outros

reagentes capazes de quebrar as ligações de hidrogênio associadas à cristalinidade. A temperatura de gelatinização varia de acordo com o tipo e concentração de amido, teor de umidade e taxa de cisalhamento durante o aquecimento (OLIVEIRA, 2014).

Figura 5: Processo de gelatinização de amido.

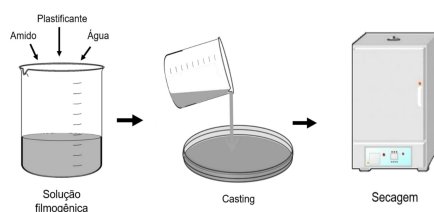


Fonte: (OLIVEIRA, 2014).

2.7 Técnica de *casting*

A técnica de *casting* baseia-se na evaporação do solvente na solução polimérica, que é vertida em uma superfície, geralmente uma placa de Petri, e esse processo pode ser acelerado por aquecimento. A técnica utilizada neste método ocorre após os grânulos de amido serem termicamente gelatinizados em excesso de água, o que resulta em uma matriz contínua na qual amilose e amilopectina são dispersas em uma solução aquosa e reorganizadas após a secagem para formar os filmes. (MALI, 2010). Na (Figura 6), pode-se visualizar um resumo das etapas de como ocorre a produção de filmes biodegradáveis a base de amido pela técnica de *casting*.

Figura 6: Representação esquemática do processo de obtenção de filmes por *casting*.



Fonte: (MALI, 2010).

2.8 Plastificantes (Glicerol)

Os plastificantes são moléculas pequenas e de baixa volatilidade que, quando adicionadas a polímeros de alto peso molecular, têm a capacidade de amolecê-los ou diminuir

seu ponto de fusão durante o processamento. Além disso, eles aumentam a flexibilidade e a extensibilidade dos polímeros, tornando-os semelhantes à borracha. Essas alterações afetam suas propriedades físicas, químicas e mecânicas. Os plastificantes atuam interferindo no espaço molecular da estrutura do polímero e reduzindo as ligações de hidrogênio entre as cadeias poliméricas, resultando em uma mudança na flexibilidade. Normalmente, os plastificantes utilizados em filmes à base de amido são polióis, como glicerol e sorbitol, que têm a função de melhorar as propriedades mecânicas (MALI; GROSSMANN; YAMASHITA, 2010).

O glicerol é o plastificante mais comumente utilizado devido à sua classificação como uma molécula orgânica da classe dos polióis. Ele é líquido à temperatura ambiente, altamente viscoso, higroscópico e inodoro. O glicerol reduz o ponto de fusão do amido, permitindo que ele seja processado e transformado em termoplásticos. Este recurso é empregado porque a temperatura de fusão do amido nativo é superior ao seu ponto de decomposição (SCHAEFFER, 2020).

2.9 Queijo Minas Artesanal Canastra

A denominação queijo está associada aos produtos de base láctea que não contém gordura ou proteína vegetal de origem não láctea, podendo ser fresco quando está pronto para consumo após a sua fabricação ou maturado quando sofre trocas bioquímicas e físicas devido às características da variedade deste alimento.

O queijo é derivado da separação parcial do soro do leite, ou leite reconstituído ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactéria específica, de ácido orgânicos, isolados ou combinados, para o consumo alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e corantes (BRASIL, 1996).

Devido ao clima, à altitude, às pastagens locais e às águas da Serra da Canastra, o Queijo Canastra possui um sabor único: é forte, levemente picante, denso e encorpado. Considerado o produto típico mais importante da região da Serra da Canastra, é produzido há mais de duzentos anos. Em 2008, recebeu o título de Patrimônio Cultural Imaterial do Brasil concedido pelo IPHAN (Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional). O Queijo Canastra é um dos produtos típicos mais relevantes de Minas Gerais. Suas características são

semelhantes às do Queijo da Serra da Estrela, de Portugal, trazido pelos imigrantes durante o Ciclo do Ouro (QUEIJOS BRASIL, 2015).

No Brasil possui uma grande variedade de queijos, e algumas das características destes queijos são atribuídas à ação microbiana, especialmente nos queijos artesanais do estado de Minas Gerais. Esses microrganismos desempenham um papel fundamental no aroma, sabor, cor, textura e outras características únicas dos alimentos. O Queijo Canastra Artesanal, produzido na região da Serra da Canastra, com a ação de fungos possui uma crosta branca e mofada, é firme ao toque e possui uma textura interna macia. Além disso, apresenta um aroma e sabor diferenciados, que podem variar entre suaves e intensos (FERRAZ *et al.*, 2021).

2.10 Microrganismos que contaminam os queijos

A maior parte das pesquisas sobre armazenamento e vida de prateleira de queijos está relacionada com problemas causados por contaminação microbiana. Além disso, a falta de barreiras de embalagem em alguns queijos pode levar a alta perda de umidade, aumento da dureza e propriedades organolépticas indesejáveis. O principal objetivo da embalagem é proteger os produtos de queijo de condições ambientais adversas, estresse mecânico e danos microbianos durante o transporte e distribuição. A classificação é baseada em critérios como método de fabricação, propriedades reológicas, tempo de fermentação, textura, teor de umidade, teor de gordura e vários fatores de processamento. Abaixo estão os microrganismos que podem contaminar queijos (FORC, 2018).

- **Enterobacteriaceae**

São um grupo microbiano indicadores higiênicos de produtos industrializados, são inativados pela adequada limpeza do local e dos equipamentos. Eles estão presentes no solo, água, plantas, frutas, carne, ovos, vegetais, animais e humanos. Eles são em forma de bastonete, não formam esporos, são anaeróbios facultativos e crescem em uma ampla faixa de temperatura. *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia coli* e os patógenos *Salmonella* e *Shigella* são exemplos de bactérias da família *Enterobacteriaceae*.

- **Coliformes Totais e *Escherichia coli***

Todo o grupo de coliformes totais consiste em microrganismos que fermentam a lactose a 35-37°C por 48 horas e produzem vários tipos de ácidos e gases como CO₂ e H₂. Este grupo é formado por microrganismos dos gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e *Enterobacter*. São encontrados no solo, água, e são indicadores de má higiene e contaminação fecal (*E. coli*).

- **Mesófilos aeróbios**

Os microrganismos mesófilos aeróbios crescem na presença de O₂ em temperaturas entre 25 °C e 40 °C. Eles representam a maioria dos microrganismos relevantes na indústria de alimentos, abrangendo tanto organismos que causam deterioração quanto patógenos. Um nível elevado de bactérias mesófilas no produto indica higiene inadequada.

- **Bolores e leveduras**

Bolores e leveduras são microrganismos que podem ocorrer em ambientes e alimentos com baixa atividade de água e pH ácido. Um alto nível de mofo e levedura indica condições inadequadas de higiene. A produção de micotoxinas por alguns fungos filamentosos está se tornando um problema de saúde pública. No entanto, é importante ressaltar que a presença de certos bolores em queijos artesanais pode ser desejável, pois eles contribuem para o desenvolvimento do aroma e sabor dos produtos durante a fase de maturação.

2.11 Defeitos causados pelos microrganismos nos queijos.

Segundo Forc (2018), os defeitos que os microrganismos podem causar nos queijos são:

- **Estufamento precoce. “Queijo inchado”**

Durante as primeiras horas ou dias de produção, o queijo apresenta pequenas rachaduras ou buracos no interior. Os coliformes são microrganismos frequentemente

associados a esse defeito. Algumas leveduras, bactérias propiônicas selvagens e bactérias lácticas também podem causar esse defeito devido à produção de gases durante a fermentação da lactose.

- **Estufamento tardio**

Grandes fissuras irregulares podem ser observadas no interior do queijo, principalmente após uma semana de maturação, e são causadas principalmente por clostrídeos. Essas bactérias são anaeróbias (se multiplicam na ausência de ar), formam esporos e fermentam a lactose para produzir ácidos orgânicos, como o ácido butírico, e CO₂. Rachaduras e fissuras se formam devido à pressão causada pelo acúmulo desses gases. *Clostridium tyrobutyricum*, *Clostridium butyricum* e *Clostridium sporogenes* são os microrganismos mais importantes associados ao estufamento tardio. O queijo não apenas incha, mas também pode desenvolver um sabor rançoso e aroma desagradável.

- **Alteração de cor e aroma**

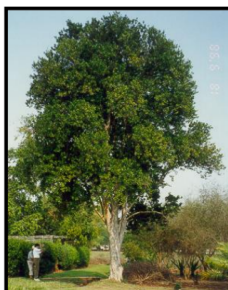
O sabor pútrido pode ser causado por vários microrganismos, como coliformes, *Clostridium tyrobutyricum*, *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus brevis*. O sabor frutado ocorre devido à presença de leveduras, enquanto o sabor doce é atribuído à ação de bactérias propiônicas.

2.12 A Pimenta da Jamaica (*Pimenta dioica* Lindl)

Descoberta pelos colonizadores espanhóis na América Central e no México, essa especiaria chamou a atenção devido ao seu aroma característico. Seu aroma é uma mistura de canela, gengibre, cravo-da-índia e noz-moscada, daí o nome em inglês allspice (todas as especiarias). É uma planta de porte arbóreo, com crescimento não tão rápido, folhas verde-escuras coriáceas e um aroma característico, que lembra fortemente o cravo-da-índia, porém é menos intenso quando comparado com os frutos (RODRIGUES, 2022).

Segundo Marinho, 2010 a espécie vegetal *Pimenta dioica* Lindl, também conhecida como pimenta da Jamaica é uma árvore com cerca de 10 metros de altura (Figura 7), pertencente à família Myrtaceae com cerca de 140 gêneros e 3.000 espécies, distribuídas nas regiões tropicais, subtropicais e Austrália temperada. As flores são pequenas e de cor branca (Figura 8). Os frutos têm um diâmetro de aproximadamente oito mm, possuem de cor escura e ficam quase pretos quando secos e são usados como especiarias (Figura 9).

Figura 7: Árvore da pimenta da Jamaica (*pimenta dioica* L.)



Fonte: (MARINHO, 2010).

Figura 8: Flores e folhas da pimenta da Jamaica (*pimenta dioica* L.).



Fonte: (MARINHO, 2010).

Figura 9: Frutos da pimenta da Jamaica (*pimenta dioica* L.).



Fonte: (MARINHO, 2010).

2.13 Óleo essencial

Os óleos essenciais (OEs) são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Esses óleos são produzidos como resultado do metabolismo secundário das plantas e são obtidos por meio de processos físicos apropriados. Em resumo, os óleos essenciais são uma mistura de compostos químicos com propriedades físico-químicas que conferem ao óleo seu aroma único. São compostos simples com solubilidade limitada. A diferença de aroma desses óleos deve-se principalmente à variação da volatilidade e ao acúmulo relativo de seus constituintes (SIMÕES *et al.*, 2007).

2.14 Óleo essencial de pimenta da Jamaica e seus benefícios

Existem dois óleos essenciais de pimenta da Jamaica (Figura 10) disponíveis comercialmente: o destilado do fruto, que possui aroma delicado e sabor apimentado característico (geralmente com preço mais alto), e o óleo extraído das folhas, considerado de menor qualidade. Os frutos secos contêm de 2 a 5% de óleo essencial, e a quantidade de óleo presente nos frutos varia de acordo com a época da colheita. Muitos benefícios biológicos e farmacológicos estão associados às propriedades da *pimenta dioica*, tais como atividade antiproliferativa, antifúngica, antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória e hipoglicemiante (COSTA, 2008).

Figura 10: Óleo essencial de pimenta da Jamaica.



Fonte: Arquivo próprio, 2023.

2.15 Fatores que influenciam na composição química dos óleos essenciais

A composição de cada parte da planta (raiz, caule, folha, fruto) pode variar de acordo com fatores intrínsecos do vegetal (fisiologia, genética) e extrínsecos, como índice pluviométrico, radiação ultravioleta, composição atmosférica, altitude, temperatura e disponibilidade de micro e macronutrientes no solo de cultivo. Portanto, cada uma dessas partes possui um perfil distinto para diferentes aplicações (COSTA, 2008).

- **Composição química do fruto**

A *pimenta dioica* é uma boa fonte de nutrientes, vitaminas e minerais. Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA, 2019), o consumo de 100 g de seus frutos fornece 21,6 g de fibra alimentar, o que corresponde a 86,40% do Valor Diário Recomendado (VDR) estabelecido pela Instrução Normativa IN 75 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2020).

O teor de fibra dessa pimenta é maior do que alguns vegetais ou frutas, como o tomate, que contém 1,2 g de fibra (TACO, 2011). Quanto aos minerais, ela apresenta as seguintes características: manganês (2,943 mg/100 g de frutos secos), o que corresponde a 98,10% do VDR; cálcio (661 mg/100 g de frutos secos) com VDR de 66,10%; e ferro (7,06 mg/100 g de frutos secos), e corresponde também a 50,43% do VDR. Além disso, essa pimenta também contém pequenas quantidades de outros minerais, como fósforo, potássio, sódio, zinco, cobre e selênio.

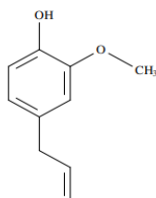
- **Composição química das folhas**

As folhas da *pimenta dioica* diferem dos frutos em termos de composição. De acordo com Rodrigues, 2020 a análise fitoquímica do extrato das folhas de *pimenta dioica* revelou a presença de glicosídeos, alcalóides, carboidratos, flavonoides, taninos e proteínas. Esses compostos incluem metileugenol, eugenol, mirceno, β -cariofileno, cineol e limoneno. Nesse sentido, também destacaram que os frutos secos da *pimenta dioica* são quimicamente mais complexos do que suas folhas. Eles possuem o maior teor do componente eugenol, considerado um dos fitoquímicos mais importantes, encontrado principalmente nas folhas verdes.

- **Composto majoritário (Eugenol)**

Por ser o principal componente do óleo de *pimenta dioica L.* (presente tanto nas folhas quanto nos frutos), o eugenol (Figura 11) é o responsável por grande parte da ação antibacteriana e antioxidante. Sua nomenclatura IUPAC é 4-alil-2-metoxifenol. Possui uma fórmula molecular de C₁₀ H₁₂ O₂ e um peso molecular de 164,2 g/mol (COSTA, 2008).

Figura 11: Fórmula estrutural do eugenol.



Fonte: (COSTA, 2008).

2.16 Uso dos óleos essenciais no controle microbiológico dos alimentos

Os óleos essenciais têm sido adicionados aos alimentos porque, além de serem produtos naturais que prolongam a vida útil dos alimentos, eles também oferecem propriedades desejáveis, como antioxidantes, antibacterianas, antifúngicas e outras (OLIVEIRA, 2021).

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais geralmente está associada a compostos como eugenol, alicina, timol e carvacrol, bem como substâncias como linalol, sabineno, mentol e mirceno, entre outros. Essas substâncias ativas possuem propriedades hidrofóbicas e atuam rompendo a parede celular dos microrganismos, o que resulta na perda de sua funcionalidade (SILVA *et al.*, 2014).

Segundo Reis *et al.*, (2020) os óleos essenciais (OEs) têm sido utilizados há várias décadas nas indústrias farmacêutica e cosmética, e recentemente têm sido estudados como aromatizantes, flavorizantes e conservantes naturais na indústria alimentícia. Como agentes antimicrobianos naturais, eles possuem o potencial de regular os microrganismos, reduzir a necessidade de aditivos, controlar a contaminação dos alimentos e aprimorar as tecnologias de extensão do prazo de validade para eliminar patógenos indesejados e retardar a deterioração do produto.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os ingredientes utilizados (Figura 12) para a produção das formulações dos filmes foram: o amido de milho (Maizena), a glicerina vegetal (Bi-Destilada) como agente plastificante, adquiridos no comércio local, água destilada, adquirida no laboratório de microbiologia e o óleo essencial de pimenta da Jamaica (Hortus Aromaticus), adquirido no mercado livre, os filmes foram produzidos no laboratório de microbiologia do IFMG *Campus* Bambuí.

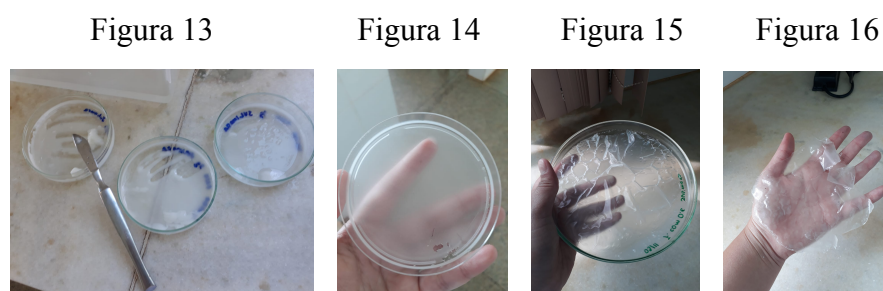
Figura 12: Ingredientes utilizados.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

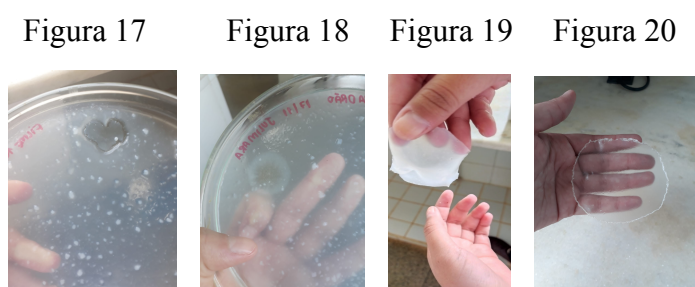
3.1 Pré-teste

Foram realizados vários pré-testes até chegar à formulação correta. Figura 13: na primeira tentativa, o filme não secou e ficou completamente molhado, não formou a película desejada. Figura 14: em outra formulação, o filme ficou ressecado na placa. Figura 15 e 16: enquanto em outra, apesar de formar o filme, ele apresentou enrugamentos e rasgos.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

Na Figura 17: em outra tentativa, surgiram elementos indesejáveis, o que exigiu o descarte do filme. Figura 18 e 19: na penúltima formulação, conseguiu-se obter o filme, mas foi necessário adicionar água na placa, o que representava um risco de contaminação caso a água estivesse contaminada, podendo afetar a qualidade do queijo, além disso, o filme ficou ressecado e quebradiço. Já na Figura 20: por fim, encontrou-se a formulação correta que foi utilizada na produção do filme.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

3.2 Produção do filme

Por ter obtido os melhores resultados no pré-teste, a solução para produzir o filme foi preparada segundo a Tabela 1, na qual contém a concentração de cada ingredientes.

Tabela 1: Ingredientes e quantidades usadas para produção do filme.

Ingredientes	Quantidades
Amido de milho	3g
Glicerina	0,9g
Água destilada	100 mL
Óleo essencial	10 e 20%

Fonte: Autor, 2023.

Para isso, todos os ingredientes foram misturados e aquecidos utilizando-se autoclave da marca FANEM (Figura 21) a cerca de 95°C por 15 min para promover a gelatinização do amido. Diferentes concentrações de OE de *pimenta dioica L.* foram adicionadas a essas soluções, resultando em cinco tratamentos.

No tratamento um: os filmes foram produzidos com todos os ingredientes, exceto o OE que foi o tratamento padrão.

No tratamento dois: foi utilizado o filme plástico de polipropileno (embalagem convencional).

No tratamento três: não foi utilizado nem o filme e nem o óleo.

No tratamento quatro e cinco: os filmes foram produzidos com todos os ingredientes e adicionados de OE de *pimenta dioica* nas concentrações de 10 e 20%.

Figura 21: Autoclave utilizada para o aquecimento da solução filmogênica.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

3.3 Secagem dos filmes

Usando a técnica de *casting*, onde as soluções foram vertidas em placas de Petri (Figura 22) e deixadas para secar em estufa B.O.D BT60 (Figura 23) a 35°C até completa

evaporação do solvente. O filme (Figura 24) foi retirado com auxílio de uma pinça manualmente da placa, tomando cuidado para não o contaminar.

Figura 22: A solução é vertida em placas de Petri.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

Figura 23: Estufa utilizada para secagem dos filmes.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

Figura 24: Filme é retirado.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

3.4 Aplicação do filme

O queijo minas artesanal Canastra (Figura 25) utilizado na simulação do projeto foi adquirido de um produtor da serra da Canastra. Onde, foi dividido em vários pedaços do mesmo tamanho com o auxílio de equipamentos sanitizados e esterilizados. Depois, os pedaços foram embalados com os filmes produzidos (Figura 26) e armazenados em temperatura ambiente no laboratório (Figura 27), para a realização das análises microbiológicas.

Figura 25: Queijo Minas Artesanal utilizado.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

Figura 26: Pedacos de queijos embalados.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

Figura 27: Queijos armazenados em temperatura ambiente.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

3.5 Análises Microbiológicas e Análise Estatística

As análises microbiológicas realizadas foram conduzidas de acordo com os métodos propostos por Silva *et al.* (SILVA *et al.*, 2007).

Foram realizadas análises microbiológicas nos filmes utilizando a metodologia de *Swab* (Figura 28).

Durante os 17 dias de armazenamento em temperatura ambiente, os queijos foram submetidos a análises nos tempos de 0,7 e 14 dias, são três repetições em duplicata. Os dados estatísticos obtidos foram interpretados por análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade.

Figura 28: Utensílios usados no teste de *swab*.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

3.6 Coloração de Gram

A técnica de coloração de Gram permite observar a morfologia das bactérias, fornecendo informações sobre o comportamento do material celular em relação a corantes básicos, conhecidos como corantes de Gram. Além disso, essa técnica também auxilia na avaliação do grau de pureza de uma cultura bacteriana (MOREIRA, 2015).

A técnica de Gram compreende as seguintes etapas: Figura 29: Fixação da bactéria em lâmina preparada, flamar rapidamente na chama do bico de Bunsen; Figura 30: Cobrir toda a lâmina com solução cristal violeta, deixar agir por 1 minuto; Figura 31: Escorrer o corante e lavar com água destilada. Cobrir a preparação com reagente de Lugol e deixar agir por um minuto.

Figura 29

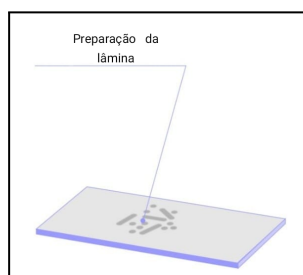


Figura 30

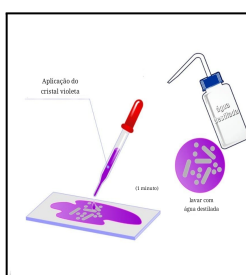
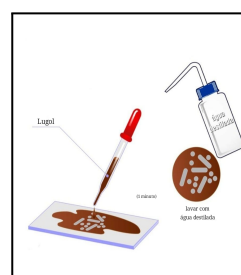
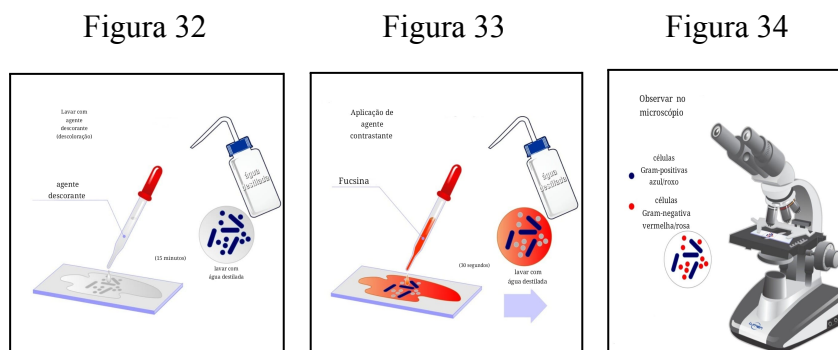


Figura 31



Fonte: (MOREIRA, 2015).

Figura 32: Descorar o material com descolorante, deixando cair a solução sobre a preparação rapidamente, até que não haja mais desprendimento de cor violeta (cerca de 15 segundos); Figura 33: Lavar com água e escorrer. Corar a preparação, durante 30 segundos, com uma solução de Fucsina; Figura 34: Escorrer o corante, lavar a lâmina com água destilada e secar com papel toalha. Observar ao microscópio com óleo de imersão empregando objetiva de 100x.



Fonte: (MOREIRA, 2015).

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

Para calcular a área em Unidade Formadora de Colônia (UFC) de aeróbios mesófilos por cm² (est) de superfície do queijo, utilizou a seguinte equação (1):

Equação (1)

$$\text{Área do queijo} = b \times h$$

O resultado encontrado do número de colônias UFC (est) — Área do queijo analisado cm²
 X — 1cm²

X = resultado UFC por cm².

A Tabela 3 mostra o resultado das análises microbiológicas para contagem de aeróbios mesófilos.

Tabela 3 - Resultados da contagem de aeróbios mesófilos nas amostras de queijo minas artesanal Canastra.

Formulações	Contagem Total (UFC/cm ²).		
	0	7 dias	14 dias
Padrão	2,8 x 10 ⁴ (est.)	4,3 x 10 ³ (est.)	7,2 x 10 ⁴ (est.)
Tradicional	2,8 x 10 ⁴ (est.)	2,3 x 10 ⁴ (est.)	1,7 x 10 ⁴ (est.)
Sem O/F	2,8 x 10 ⁴ (est.)	4,3 x 10 ⁴ (est.)	2,6 x 10 ⁴ (est.)
10%	2,8 x 10 ⁴ (est.)	3,2 x 10 ⁴ (est.)	4,1 x 10 ⁴ (est.)
20%	2,8 x 10 ⁴ (est.)	1,8 x 10 ⁴ (est.)	8,4 x 10 ⁴ (est.)

Fonte: Autor, 2023.

*Limite: Não estabelecido por lei.

• Mais eficiente

Padrão: Amostra de queijo embalada apenas com o filme, sem a adição de óleo essencial de *pimenta dioica*;

Tradicional: Amostra de queijo embalada com o filme plástico de polipropileno (embalagem convencional).

Sem O/F: Amostra de queijo não foi embalada nem com o filme e nem com o óleo essencial *pimenta dioica*;

10% e 20%: Amostra de queijo foi embalada com filme adicionado com o óleo essencial de *pimenta dioica*.

A formulação padrão começou com a contagem de mesófilos aeróbios de $2,8 \times 10^4$ (est.), depois de sete dias armazenados em temperatura de 35°C foi para $4,3 \times 10^3$ (est.), e depois de 14 dias foi para $7,2 \times 10^4$ (est.). Com base nos resultados, observou-se que essa formulação não foi eficiente.

A contagem inicial de mesófilos aeróbios no filme tradicional foi de $2,8 \times 10^4$ (est.). Após sete dias de armazenamento em temperatura de 35°C , a contagem diminuiu para $2,3 \times 10^4$ (est.), e após 14 dias, reduziu ainda mais para $1,7 \times 10^4$ (est.). Portanto, o filme demonstrou eficiência;

Na formulação sem o uso de filme, a contagem inicial de mesófilos aeróbios foi de $2,8 \times 10^4$ (est.). Após sete dias, a contagem aumentou para $4,3 \times 10^4$ (est.), e após 14 dias de armazenamento em temperatura de 35°C , a contagem diminuiu para $2,6 \times 10^4$ (est.). Com base nos resultados, verificou-se que essa formulação não foi eficiente;

O filme com a adição do óleo essencial de pimenta *dioica* iniciou com uma contagem de mesófilos aeróbios de $2,8 \times 10^4$ (est.). Após sete dias de armazenamento em 35°C , a contagem diminuiu para $1,8 \times 10^4$ (est.). No entanto, após 14 dias, houve um aumento significativo na contagem, chegando a $8,4 \times 10^4$ (est.), o que indica que a formulação não foi eficiente nesse período.

A contaminação por microrganismos mesófilos aeróbios indica deficiências no processamento, armazenamento e/ou distribuição dos queijos. Com base nos resultados, pode-se suspeitar que o ambiente onde o queijo Minas artesanal Canastra foi produzido apresentava condições higiênico-sanitárias insatisfatórias.

Na pesquisa realizada por Roos *et al.*, (2005) com 25 amostras de queijo colonial no Rio Grande do Sul, provenientes de cinco estabelecimentos da cidade de Três Passos, observou-se contagens de mesófilos que variaram de $4,8 \times 10^7$ a $2,8 \times 10^{12}$ UFC/g. Essa contaminação provavelmente se deve a falta de pasteurização da matéria-prima, má higienização na manipulação do produto e armazenagem de forma inadequada.

Garcia *et al.* (2016) realizaram análises em 18 amostras de queijos frescos artesanais comercializados na região do norte de Minas Gerais. A partir dos dados encontrados, observou-se que o produto analisado apresentou uma elevada contagem de bactérias aeróbias mesófilas, com valores superiores a $2,5 \times 10^8$ UFC/g. Com isso pode-se suspeitar que o ambiente no qual foi produzido o queijo fresco artesanal, analisado nesta pesquisa, apresentava condições higiênicas insatisfatórias devido à alta contaminação do produto por estas bactérias.

Mello *et al.* (2022) verificou a qualidade microbiológica de 16 amostras de queijos artesanais com selo ARTE comercializados em Ribeirão Preto - SP. A análise dos microrganismos aeróbios mesófilos revelou que as contagens variaram de $1,2 \times 10^3$ (est.) a $>6,5 \times 10^6$ UFC/g de queijo. Com isso, acredita-se que os procedimentos de higiene fundamentais para a manipulação de alimentos não tenham sido adequadamente adotados durante o processamento, transporte ou armazenamento.

Segundo Melo *et al.* (2009), em um estudo com 30 amostras de queijo Minas Padrão procedentes de diferentes supermercados do Município de São Luís - MA, observou-se que o produto analisado apresentou uma elevada população de bactérias aeróbias mesófilas ($1,0 \times 10^8$ UFC/g). Pode-se concluir que o produto analisado apresentava condições higiênico-sanitárias insatisfatórias.

De acordo com Lima *et al.* (2020), foram produzidos filmes biodegradáveis incorporados com óleo essencial de orégano para prolongar a vida útil do queijo provolone em temperatura ambiente. Ao realizar as análises microbiológicas do filme produzido, a grande maioria não apresentou contaminação, destacando a eficácia dos filmes na prevenção da contaminação microbiológica, exceto para o filme com 30% de óleo essencial que apresentou contaminação por *Staphylococcus aureus*.

Balan (2013) produziu filmes biodegradáveis por meio de extrusão, utilizando blendas de amido de mandioca, glicerol, poli (butileno adipato co-tereftalato) (PBAT), butil hidroxitolueno (BHT) e óleo essencial de orégano como matéria-prima, e aplicou-os como embalagem para queijo muçarela. Observou-se que, nas análises microbiológicas realizadas no queijo muçarela no tempo zero (F0) e nos quatro tratamentos após 10 dias, não foi detectada a presença de *Escherichia coli* e *Salmonella spp.*

Quanto aos bolores e leveduras, não houve crescimento no tempo zero, exceto nos filmes com PVC, enquanto nos tratamentos F1 (filme de amido), F2 (filme de amido com 1% de óleo essencial de orégano) e F3 (filme de amido com 1% de BHT), foi observado um crescimento de $1,2 \times 10$ UFC/g. Concluiu-se que o presente estudo estava em conformidade com as normas estabelecidas pela ANVISA.

4.1 Análise Estatística

Para a análise de variância das formulações estão descritas no APÊNDICE A. A Tabela 4 apresenta os resultados estatísticos.

Tabela 4 - Resultados estatísticos.

CV	G <
Formulação	4
Tempo	2
Tratamentos x Tempo	8
Erro de Resíduos	15
TOTAL	29

Fonte: Autor, 2023.

De acordo com os resultados, não houve impacto relevante tanto nos filmes quanto no tempo de armazenamento, assim como na relação entre ambos.

4.2 Coloração de Gram

A Tabela 2 mostra os resultados da coloração de gram utilizando como padrão 10^{-3} para saber quais microrganismos estava mais presente.

Tabela 2: Resultados da coloração de gram realizados no queijo minas artesanal Canastra.

Coloração de Gram			
Formulações	Coloração	Morfologia	Gram
Padrão 10^{-3}	Amarela	● Bacilos, cocos e diplococos	-
Padrão 10^{-3}	Branca	Bacilos	+
Tradicional 10^{-3}	Branca	Bacilos e leveduras ●	+
Tradicional 10^{-3}	—	—	—
Sem O/F 10^{-3}	Amarela	● Estafilococos	+ -
Sem O/F 10^{-3}	Branca	Cocos diversos	+
10% O.E 10^{-3}	Branca	Estafilococos	-
10% O.E 10^{-3}	Amarela	Bacilos	+ -
20% O.E 10^{-3}	Branca	Bacilos	+
20% O.E 10^{-3}	Branca	● Cocos	-

Fonte: Autor, 2023.

* O.E : Óleo essencial; * - negativo; * + positivo

● Micro. mais presente

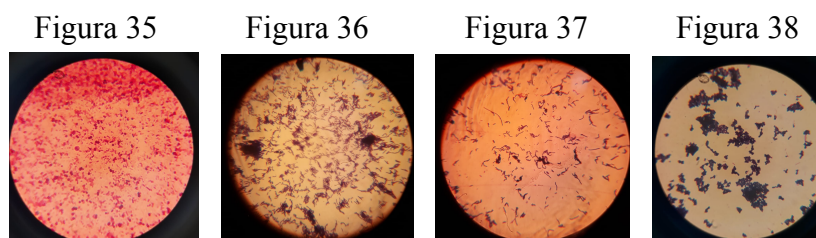
● Micro menos presente

Pelos resultados, os microrganismos mais presentes foram bacilos, que são bactérias com formato de bastão, podendo ser curtos ou longos, cocos, que são bactérias com formato esférico ou oval, e estafilococos, que são cocos agrupados como cachos de uvas. A levedura foi a que esteve menos presente.

Após o procedimento realizado, a lâmina foi levada ao microscópio para observação, onde se notou que algumas bactérias adquiriram a coloração azul-violeta, enquanto outras adquiriram a coloração rosa.

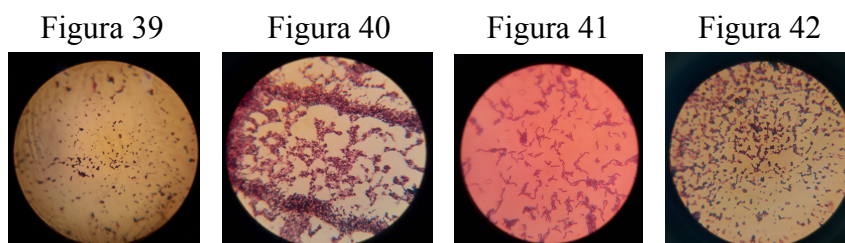
Depois de serem observadas cuidadosamente, concluiu-se que as bactérias eram do tipo Gram-positivo e Gram-negativo (VIEIRA; FERNANDES, 2012). Abaixo estão as imagens com os resultados da coloração:

Figura 35: Amostra padrão identificando bactérias Gram negativo; Figura 36: Amostra padrão identificando bactérias Gram positivo; Figura 37: Amostra tradicional identificando bactérias Gram positivo; Figura 38: Amostra sem O/F identificando bactérias Gram positivo e Gram negativo.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

Figura 39: Amostra sem O/F identificando bactérias Gram positivo e Gram negativo; Figura 40: Amostra com adição de 10% de óleo essencial pimenta *dioica* identificando bactérias Gram positivo e Gram negativo; Figura 41: Amostra com adição de 20% de óleo essencial pimenta *dioica* identificando bactérias Gram positivo; Figura 42: Amostra com adição de 20% de óleo essencial pimenta *dioica* identificando bactérias Gram positivo.



Fonte: Arquivo Próprio, 2023.

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que o filme com concentrações de 10% e 20% de óleo essencial de *pimenta dioica* não apresentou grande efetividade. Isso pode ser atribuído ao fato de que o queijo é um produto bastante manipulado, o que aumenta a possibilidade de contaminação, tanto na superfície quanto no interior do queijo.

Recomenda-se a realização de mais estudos para aprimorar as técnicas e garantir a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, de modo a permitir seu uso em embalagens. Essas embalagens poderão ser consideradas ativas, melhorando assim suas propriedades de barreira.

REFERÊNCIAS

ABRE **Associação Brasileira de Embalagens**. Disponível em: <http://www.abre.org.br>. Acesso em: 02 jun. 2023.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução normativa - IN N° 75, de 8 de outubro de 2020 - complementar à Resolução de Diretoria Colegiada - RDC n° 429, de 8 de outubro de 2020. Acesso em: 25 mai. 2023.

BALAN, Geane Cristiane. **Elaboração e aplicação de filme a base de amido na conservação de queijo tipo mussarela**. 2013. 49 f. TCC (Graduação) - Curso de Tecnólogo em Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2013.

BHARGAVA, Nitya; SHARANAGAT, Vijay Singh; MOR, Rahul s; KUMAR, Kshitiz. Active and smart biodegradable packaging films using bioactive compounds food derivatives and food waste: A review. **Tendências em Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Índia, p. 1-17. 22 set. 2020.

BOZ, Ziyne; KORHONEN, Virpi; SAND, Claire Koelsch. Consumer Considerations for the Implementation of Sustainable Packaging: A Review. **Sustainability**. Florida, p. 1-34. 12 mar. 2020.

BRASIL: Ministério da Agricultura. Portaria N° 146 de 07 de março de 1996. **Secretaria de Defesa Agropecuária Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal DIPOA**, [S. l.], 1996. Disponível em: http://www.dourados.ms.gov.br/wp-content/uploads/2016/05/RTIQ-Leite-CompletoPORTARIA-146_96-ok.pdf. Acesso em: 04 jun. 2023.

COSTA SOBRINHO, João Reis Salgado. **Estudo Analítico e Avaliação Antimicrobiano do Óleo Essencial Extraído das Folhas da *Pimenta dioica* L.** 2008. 95 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química Analítica, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2008.

FERRAZ, Kamylyle Silva *et al.* Evaluation of bromatological parameters in Canastra cheese produced. **Brazilian Journal Of Development**. Curitiba, p. 1-17. jun. 2021.

FORC, Food Research Center -. Boas práticas de fabricação na Queijaria Artesanal. **Centro de Pesquisa em Alimentos**. São Paulo, p. 1-10. jun. 2018.

GARCIA, Jéssica Karoline Santos *et al.* Qualidade microbiológica de queijos frescos artesanais comercializados na região do norte de Minas Gerais. **Caderno Ciências Agrárias**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 58-65, 2016.

GRANATO, Giulia; FISCHER, Arnout Rh; VAN TRIJP, Hans Cm. The price of sustainability: how consumers trade the benefits of conventional packaging for sustainability. **Jornal de Produção Mais Limpa**. Holanda, p. 1-18. 22 jun. 2022.

LANDIM, Ana Paula Miguel *et al.* Sustainability concerning food packaging in Brazil. **Sustainability**. Rio de Janeiro, p. 1-11. out. 2016.

LARANJEIRA, Ruandra Kaienne da Silva. **Amidos de fontes convencionais e sua aplicação em filmes biodegradáveis: fundamentos e aplicações**. 2021. 63 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2021.

MALI, Suzana; GROSSMANN, Maria Victória Eiras; YAMASHITA, Fábio. **Starch Films: production, properties and potential of utilization**. 2010. 20 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2008.

MARINHO, Silvio Carvalho. **Estudo químico, avaliação eletroquímica e atividade larvicida do óleo essencial das folhas da Pimenta dioica Lindl frente Aedes Aegypti**. 2010. 124 f. Tese (Doutorado) - Curso de Doutor em Química Analítica, Programa de Pós - Graduação em Química da UFPB, João Pessoa, 2010.

MELO, Ana Carolina Miranda; ALVES, Lucia Maria Coelho.; COSTA, Francisca Neide. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo tipo minas padrão comercializado na cidade de São Luis, MA. **Arquivos do Instituto Biológico**, [S. l.], v. 76, n. 4, p. 547-551, out./nov. 2009.

MELLO, Larissa Laila *et al.* Análise de microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos em queijos artesanais com selo ARTE comercializados em Ribeirão Preto - SP. XV Encontro de Iniciação Científica do Centro Universitário Barão de Mauá Anais, v. 7, 2022

MOREIRA, José Luciano Bezerra; CARVALHO, Cibele Barreto Mano de; FROTA, Cristiane Cunha. **Visualização bacteriana e colorações**. Fortaleza: Imprensa Universitária, 2015.

NASCIMENTO, Nataly Miranda do. **Desenvolvimento e caracterização de filmes biodegradáveis de araruta com própolis vermelha de alagoas**. 2021. 67 f. Tese (Doutorado) - Curso de Doutora em Materiais, Universidade Federal de Alagoas, Maceió-AL, 2021.

OLIVEIRA, Jessica Caroline Toledo. **Obtenção e Caracterização de Filmes Biodegradáveis pelo Método de Casting utilizando diferentes fontes de amido e glicerol como elemento plastificante**. 2014. 19 f. TCC (Graduação) - Curso de Ciências Exatas e da Terra. Instituto Municipal de Ensino Superior Campus "José Satili Sobrinho", Assis, 2014.

QUEIJOS BRASIL. **Queijo Canastra**. Disponível em: <https://www.queijosnobrasil.com.br/portal/tudo-sobre-queijo/67-queijo-canastra>. Publicado em 2 jun. 2015. Acesso em: 4 jun. 2023.

REIS, Juliana Borges *et al.* Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Brazilian Journal of health Review**, [s. l.], p. 2, 20 jan. 2020.

RODRIGUES, Suélen Seledes. **Pimenta Jamaica (Pimenta dioica): Prospecção do seu potencial bioativo e tecnológico**. 2022. 67 f. TCC (Graduação) - Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2022.

ROOS, Talita Bandeira; SCHEID FILHO, Virgílio Balduino; TIMM, Cláudio Dias; OLIVEIRA, Daniela dos Santos de. Avaliação microbiológica de queijo colonial produzido na cidade de Três Passos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 132, p. 94-96, 2005.

SCHAEFFER, Daiane. **Obtenção e caracterização de biopolímeros a partir de fécula de mandioca e amido de milho**. 2020. 64 f. Monografia (Especialização) - Curso de Engenharia Química, Universidade do Vale do Taquari Univates, Lajeado, 2020.

SILVA, ANGELA APARECIDA DA *et al.* Atividade microbiológica de óleos essenciais obtidos por arraste a vapor. **Revista UNINGÁ Review**, [S. l.], p. 2, 25 dez. 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 3ª edição. São Paulo: Livraria Varela, 2007.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira *et al.* **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Ufrgs, 2007. 548 p.

SOUZA, Ana Cristina de. **Desenvolvimento de embalagens biodegradáveis ativa a base de fécula de mandioca e agentes antimicrobianos naturais**. 2011. 138 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Engenharia Química, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

TACO. Tabela brasileira de composição de alimentos. 4 ed. Campinas: NEPA UNICAMP, 2011. 161p.

TRAJANO, Vinicius Nogueira *et al.* Antibacterial property of spice essential oils on food contaminating bacteria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 3, p. 1-4, set. 2009.

USDA. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service. Food Data Central. Spices, allspice, ground - 2019. Disponível em:

<https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/171315/nutrients> . Acesso em: 23 mai. 2023.

VIEIRA, Darlene Ana de Paula; FERNANDES, Nayara Cláudia de Assunção Queiroz. **Microbiologia Geral**. Inhumas - Go: Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2012. 100 p.

VIÉGAS, Larissa Paiva. **Preparação e caracterização de filmes biodegradáveis a partir de amido com quitosana para aplicação em embalagens de alimentos**. 2016. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestre em Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2016, 2016.

APÊNDICE A - Análise Estatística

Arquivo analisado:

C:\Users\julia\OneDrive\Área de Trabalho\Análise.DB

 Variável analisada: Mesófilos

Opção de transformação: Variável sem transformação (Y)

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Filmes	4	13884.011761	3471.002940	0.500	0.7360
Armazenamento	2	36073.507933	18036.753966	2.597	0.0911
Filmes*Armazenamento	8	19434.430964	2429.303871	0.350	0.9384
erro	30	208328.842731	6944.294758		
Total corrigido	44	277720.793389			
CV (%) =	299.75				
Média geral:	27.8005833	Número de observações:	45		