

PRODUÇÃO DE FILME ATIVO ADICIONADO DE ÓLEO ESSENCIAL PARA CONSERVAÇÃO DE QUEIJOS

PRODUCTION OF ADDED ACTIVE FILM FOR ESSENTIAL OIL FOR CHEESE CONSERVATION

Juliete Vilasboas Lima¹; **Marcilio Nunes Moreira**²; **Ana Maria Belém dos Santos**³; **Milton Ricardo Silveira Brandão**⁴; **Aureluci Alves de Aquino**⁵

¹Curso de Tecnologia em Agroindústria-Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Campus Guanambi, Guanambi, Bahia, Brasil - vilasboas.juliete@hotmail.com

²Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos-Universidade Federal de Sergipe-marcilio10@gmail.com

³Curso de Tecnologia em Agroindústria-Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Campus Guanambi, Guanambi, Bahia, Brasil - anamabelem@gmail.com

⁴Curso de Tecnologia em Agroindústria-Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Campus Guanambi, Guanambi, Bahia, Brasil - ricardo.brandao@ifbaiano.edu.br

⁵Curso de Tecnologia em Agroindústria-Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Baiano, Campus Guanambi, Guanambi, Bahia, Brasil - aureluci.aquino@ifbaiano.edu.br

Resumo

É crescente o emprego de matérias-primas vindas de recursos renováveis para a produção de embalagens. Entre os biopolímeros promissores para esse fim estão os amidos que podem vir de diversas fontes botânicas, que são biodegradáveis, têm custo baixo e estão disponíveis em várias partes do mundo. As embalagens ativas biodegradáveis além de preservar as características sensoriais e nutricionais do alimento visam a preservação ambiental e a substituição de plásticos oriundos de fontes petrolíferas. O queijo é um veículo de transmissão de doenças, como é o caso das intoxicações alimentares, por esse motivo deve-se ter cuidados redobrados desde a sua produção até o armazenamento. Dessa forma, o trabalho teve como objetivo a produção de filme biodegradável incorporado com óleo essencial de orégano para prolongar a vida útil de queijo provolone em temperatura ambiente. Os filmes foram fabricados com as concentrações de 1,5% de amido modificado e de gelatina, 3% de glicerol e amido de milho e foram testadas diferentes concentrações de óleo essencial de orégano. Os parâmetros físico-químicos foram testados nos tempos 0, 7 e 15 dias. As análises microbiológicas foram realizadas nos tempos 0, 7 e 15 dias com o objetivo de avaliar a eficiência do óleo essencial com ação antimicrobiana para os micro-organismos coliformes totais, coliformes termotolerantes, Escherichia coli, Salmonella, Staphylococcus aureus e fungos filamentosos. O trabalho permitiu concluir que o filme formou barreira para a atividade microbiana visto que não houve qualquer crescimento para todos os micro-organismos analisados. Para o parâmetro perda de massa o filme não mostrou eficiência.

Palavras-chave: armazenamento; crescimento microbiano; filmes biodegradáveis; novas tecnologias.

Abstract

There is a growing use of raw materials from renewable resources for packaging production. Promising biopolymers for this purpose include starches that can come from various botanical sources, which are biodegradable, inexpensive, and available in many parts of the world. Biodegradable active packaging, in addition to preserving the sensory and nutritional characteristics of food, aims at environmental preservation and the replacement of plastics from petroleum sources. Cheese is a vehicle of disease transmission, as is the case with food poisoning, so care must be taken from production to storage. Thus, the work aimed to produce biodegradable film incorporated with oregano essential oil to prolong the shelf life of provolone cheese at room temperature. The films were manufactured with 1.5% modified starch and gelatin concentrations, 3% glycerol and corn starch and different concentrations of oregano essential oil were tested. Physicochemical parameters were tested at times 0, 7 and 15 days. Microbiological analyzes were performed at times 0, 7 and 15 days to evaluate the efficiency of the essential oil with antimicrobial action for total coliform, thermotolerant coliforms, Escherichia coli, Salmonella, Staphylococcus aureus and filamentous fungi. The work concluded that the film formed a barrier to microbial activity since there was no growth for all microorganisms analyzed. For the mass loss parameter the film showed no efficiency.

Key-words: storage; biopolymers; microbial growth; biodegradable films; new technologies.

1. Introdução

Ao confrontar o passado com a realidade hoje, pode-se perceber o grande avanço tecnológico, principalmente no segmento alimentar. As embalagens surgiram como peça fundamental para a conservação dos alimentos, entretanto, sua utilização trouxe consigo uma desvantagem, a poluição ambiental. Neste sentido, a ciência dos alimentos, através de estudos e pesquisas, tenta inovar tipos de embalagens que, além de proteger e manter a qualidade intrínseca do alimento por mais tempo, gere também, menores malefícios ao meio ambiente.

Os alimentos possuem uma composição intrínseca excelente para o desenvolvimento de micro-organismos, que quando associado a práticas inadequadas no processamento e armazenamento, proporcionam condições favoráveis para uma ampla variedade de espécies patogênicas, indesejáveis ao alimento e, principalmente, a saúde do consumidor. Diante dessa realidade e buscando novas técnicas naturais de preservação dos alimentos, o uso de filmes adicionados de óleos essenciais torna-se um potencial sistema de bioconservação, visto que podem prolongar a vida útil dos alimentos, mantendo-os com qualidade em relação a suas características microbiológicas (TRAJANO et al., 2009).

Produtos perecíveis, como os queijos requerem proteção contra o crescimento microbiano durante a sua vida útil. Técnicas alternativas de preservação vêm sendo estudadas a fim de assegurar a qualidade e segurança destes alimentos. Uma nova tendência em alimentos consiste em

usar as embalagens com o intuito de ampliar esta margem de segurança (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002).

A incorporação de antimicrobianos em filmes plásticos tem se revelado uma tecnologia promissora, uma vez que a maioria dos alimentos sólidos e semissólidos apresenta crescimento microbiano em sua superfície. Os óleos essenciais (OE) de plantas possuem substâncias bioativas e diversos pesquisadores entre eles, os da área de alimentos têm buscado a sua comprovação quanto a sua ação inibidora do crescimento microbiano, assim como sua inserção no processamento de alimentos sem alterar suas características. Os OEs podem ser empregados junto à massa alimentar durante o processamento ou incorporados aos revestimentos e filmes comestíveis para posterior aplicação, buscando inovar a ciência de alimentos e beneficiando os produtores e consumidores dos diferentes segmentos alimentares os quais podem ser inseridos nessa nova tecnologia, constituindo-se de base para a produção de conservantes naturais (TRAJANO et al., 2009).

Algumas frações do OE de orégano têm se revelado eficientes contra uma série de bactérias de interesse em alimentos (OUSSALAH et al., 2004). O OE de orégano é rico em compostos fenólicos, responsáveis por sua intensa atividade antimicrobiana devido à sua capacidade de penetrarem o interior da célula e interagirem com os mecanismos do metabolismo microbiano. Portanto, este trabalho teve por objetivo a produção de filmes biodegradável incorporado com OE de orégano para prolongar a vida útil de queijo provolone em temperatura ambiente.

2. Material e Métodos

2.1. Produção do Filme

Foram utilizados para a produção do filme amido de milho, amido modificado, gelatina, glicerol e OE de orégano. Por ter tido os melhores resultados no pré-teste, a concentração de amido utilizada foi a de 3,0% que foi adicionada de 1,5% de amido modificado, 1,5% de gelatina e 3,0% de glicerol. Nestas soluções foram adicionadas distintas concentrações de OE de orégano, resultando em cinco tratamentos.

No Tratamento 1 (O1), os filmes foram produzidos com todos os ingredientes, sem o OE que foi o tratamento controle. Nos outros tratamentos, os filmes foram produzidos com todos os ingredientes e adicionados de OE de orégano nas concentrações de 15, 30, 45 e 60%, codificadas respectivamente como O2, O3, O4 e O5.

Nos filmes produzidos foram realizadas análises de umidade e de solubilidade.

2.2. Análise de Solubilidade em Água

Três amostras dos filmes produzidos de aproximadamente 4cm² foram colocados em estufa a 105°C por 24 horas, e após esse período as amostras foram pesadas. Posteriormente a este tempo, elas foram inseridas em um béquer com 80mL de água destilada sob agitação magnética a 25°C por 24 horas. Logo após, as amostras foram colocadas novamente em estufa a 105°C por 24 horas para a secagem e posterior pesagem para assim obter a massa final.

2.3. Aplicação do Filme

Os queijos provolone utilizados no experimento foram adquiridos na cidade de Guanambi, Bahia, no dia 30 de abril de 2019. Os queijos foram ralados utilizando equipamentos sanitizados e posteriormente foram embalados a vácuo com os filmes produzidos, armazenados no laboratório a temperatura ambiente, para a realização das análises físico-químicas e microbiológicas. O estudo de vida útil do produto foi feito inicialmente em amostras com o filme com 0% (tratamento controle) e adicionado de 15, 30, 45 e 60% de OE de orégano (tratamentos O1, O2, O3, O4 e O5) por 15 dias.

2.4. Análises Físico-Químicas do Queijo

Os procedimentos das análises realizadas seguiram os métodos descritos pela Instrução Normativa nº68 (BRASIL, 2006). As amostras de queijo provolone, foram analisadas durante 15 dias de armazenamento em temperatura ambiente, nos tempos de 0, 7 e 15 dias, em duplicata, para os parâmetros perda de massa, pH e acidez titulável.

2.5. Análises Microbiológicas

Os procedimentos das análises microbiológicas realizadas seguiram os métodos segundo Silva et al. (SILVA et al., 2007).

Foram realizadas análises microbiológicas nos filmes utilizando a metodologia de *Swab*.

As análises no queijo ocorreram durante os 15 dias de armazenamento em temperatura ambiente, nos tempos 0, 7 e 15 dias, em duplicata, para os parâmetros coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* e fungos filamentosos.

2.6. Preparo das Amostras e Diluições

Pesou-se 25 gramas da amostra, que foi diluída em 225mL de água peptonada 0,1% e homogeneizada em *Stomacher*, sendo considerada está a diluição 10^{-1} . A partir desta diluição foi retirado 1mL e diluído em 9mL de água peptonada obtendo-se assim a diluição de 10^{-2} . Realizou-se esta metodologia até a obtenção da diluição 10^{-4} .

2.6.1. Coliformes Totais e Termotolerantes

Na prova presuntiva de coliformes, inoculou-se 1mL de cada amostra para uma série de nove tubos contendo 9mL de caldo Lauril Sulfato de Triptose (LST) contendo tubos de *Durhan* invertidos e, incubou-se em estufa BOD a 35°C por 24/48 horas.

Para a prova confirmativa de coliformes totais e termotolerantes na amostra, foi utilizado os tubos positivos da prova presuntiva, ou seja, tubos com o meio turvo e produção de gás nos tubos de *Durhan*. Inoculou-se uma alçada para uma série de nove tubos contendo Caldo Verde Brilhante (VB) com tubos de *Durhan* invertidos e incubou-os em estufa BOD a 35°C por 24/48 horas para coliformes totais. Para a confirmação de coliforme termotolerantes, inoculou-se uma alçada para uma série de nove tubos com caldo *Escherichia coli* (EC) com tubos de *Durhan* invertidos e incubou em estufa BOD a 45°C por 24/48 horas.

Após este período, os tubos com turvação do meio e com formação de gás nos tubos de *Durhan* foram considerados positivos e os resultados foram obtidos e expressos em NMP/g.

2.6.2. *Escherichia Coli*

Utilizou-se petrifilmes do tipo EC (3M *Company*), onde foram inoculados 1mL correspondente a cada diluição decimal. Os petrifilmes foram incubados em estufa BOD em uma temperatura média de 37°C por um período de 24 horas. Após o período de incubação, as placas de petrifilm que tiveram crescimento foram contadas, e os resultados obtidos foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g).

2.6.3. Salmonella

Com o auxílio de uma pipeta automática foram inoculados 0,1mL de cada diluição em placas de *petri* estéreis contendo Ágar Salmonella-Shigella (SS). As placas foram incubadas invertidas a 35°C por 18 a 24 horas. As placas que tiveram crescimento foram contadas, e os resultados obtidos foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g).

2.6.4. Staphylococcus Aureus

A metodologia foi a de contagem direta em placas pela técnica de semeadura em superfície ou *spread plate*. Com o auxílio de uma pipeta automática foram inoculados 0,1 mL de cada diluição em placas de *petri* estéreis contendo Ágar Baird-Parker (BP). As placas foram incubadas invertidas a 35°C por 48 horas e as que tiveram crescimento foram contadas, e os resultados obtidos foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g).

2.6.5. Fungos Filamentosos

A metodologia para a pesquisa de fungos filamentosos foi a de contagem direta em placas pela técnica de semeadura em superfície ou *spread plate*. Foram inoculados 0,1mL com o auxílio de uma pipeta automática em placas de *petri* contendo o meio ágar Batata Dextrose. As placas foram incubadas invertidas a 25°C por um período de sete dias. Após o período de incubação, as placas que tiveram crescimento foram contadas, e os resultados obtidos foram expressos em Unidades Formadoras de Colônias por grama (UFC/g).

2.7. Análises Estatísticas

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com esquema fatorial de 5X3 (cinco tratamentos de revestimentos por três períodos de armazenamento).

Os dados físico-químicos obtidos foram interpretados por análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade e regressão. As médias dos tratamentos foram comparadas utilizando-se o teste de *Tukey*, ao nível de 5% de probabilidade, com auxílio do *software* Minitab versão 17.

3. Resultados e Discussões

3.1. Solubilidade em Água

A Tabela 1 mostra os resultados obtidos quanto a solubilidade do filme biodegradável produzido com glicerol, amido modificado, amido de milho e diferentes concentrações de óleo essencial de orégano.

Tabela 1 – Média dos resultados obtidos quanto a solubilidade do filme biodegradável produzido e adicionado de óleo essencial de orégano. Instituto Federal Baiano, *Campus* Guanambi, 2019.

Parâmetro	O1	O2	O3	O4	O5
Solubilidade (%)	27 ^a	28,3 ^a	32,2 ^a	14,6 ^b	23 ^a

O1: Tratamento controle; O2: queijo revestido com filme com concentração de 15% de OE; O3: concentração de 30% de OE; O4: concentração de 45% de OE; O5: concentração de 60% de OE. Médias com letras distintas na mesma linha apresentam diferença estatística entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Fonte: Autores (2019).

Para os tratamentos O1, O2, O3 e O5, a solubilidade do filme produzido com diferentes concentrações de OE de orégano, não diferiram entre si, mas estes diferiram para o tratamento O4, filme adicionado de 45% de OE. Os filmes que apresentam baixa solubilidade são ideais para armazenamento, pois vão garantir maior estabilidade e integridade aos produtos.

3.2. Análises Físico-Químicas do Queijo

Tabela 2 – Equações e R^2 , proveniente das análises de regressão dos dados físico-químicos: acidez, pH e perda de massa dos queijos embalados com o filme biodegradável produzido e adicionado de óleo essencial de orégano. Instituto Federal Baiano, *Campus* Guanambi, 2019.

Parâmetro	Modelo ajustado ^a	R^2	Equação
Perda de massa	$Y = 5,0133 - 0,1182 * t + 0,00359 * t^2$	0,8027	1
pH	$Y = 5,2169 - 0,00862 * OE - 0,06659 * t + 0,000138 * OE^2$	0,9604	2
Acidez	$Y = 1,5483 + 0,000496 * OE - 0,02155 * t + 0,000018 * OE^2 + 0,000051 * t^2 + 0,000111 * OE * t$	0,9370	3

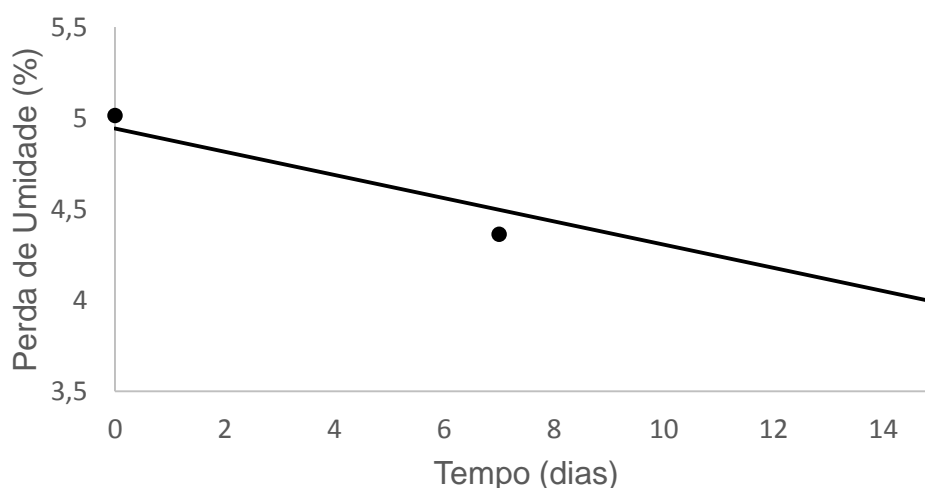
^a Foi utilizado o modelo Quadrático Completo e os coeficientes não apresentados na equação foram não significativos ($P > 0,05$); * Significativo pelo teste t de Student ($P < 0,05$). Fonte: Autores (2019).

As análises de pH e acidez titulável foram afetadas pelo tempo e pelas concentrações de OE de orégano, diferente da perda de massa, que somente o tempo influenciou, as concentrações de OE não afetaram na perda de massa.

3.3. Perda de Massa

A Figura 1 está apresentado os resultados obtidos para perda de massa dos queijos revestidos com filmes biodegradáveis produzido com glicerol, amido modificado, amido de milho e diferentes concentrações de óleo essencial de orégano.

Figura 1 – Perda de umidade das amostras de queijo embalados com o filme biodegradável produzido e adicionado de óleo essencial de orégano, em função do tempo, em dias. Instituto Federal Baiano, *Campus Guanambi*, 2019.



Fonte: Autores (2019).

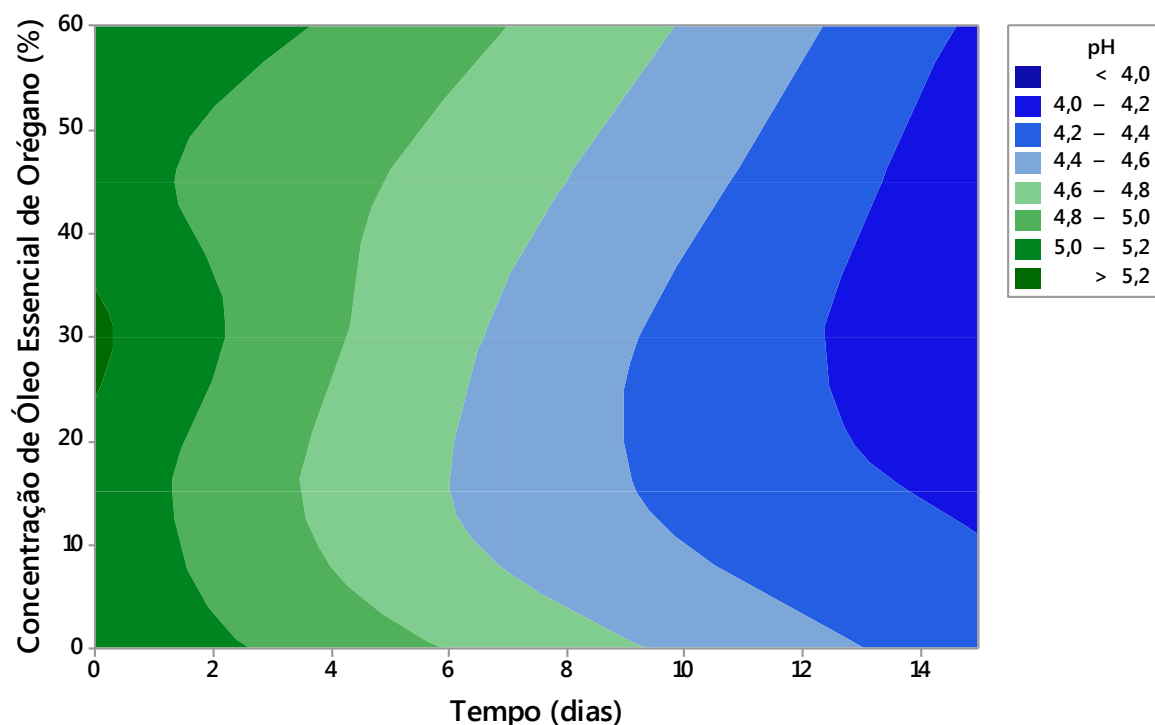
Os resultados mostram uma instabilidade na perda de umidade do queijo embalado com o filme produzido. Isso pode ter acontecido pela alta permeabilidade do filme de amido. As concentrações de OE de orégano não foi o fator que influenciou na perda da umidade, somente o tempo, pois em todas as concentrações houve a perda gradativa de massa das amostras de queijo analisadas.

3.4. pH

A Figura 2 está apresentado os resultados obtidos para pH dos queijos revestidos com filmes biodegradáveis produzido com glicerol, amido modificado, amido de milho e diferentes

concentrações de óleo essencial de orégano.

Figura 2 – pH das amostras de queijo embalados com o filme biodegradável produzido, em função da concentração de óleo essencial de orégano, em %, e do tempo, em dias. Instituto Federal Baiano, *Campus Guanambi*, 2019.



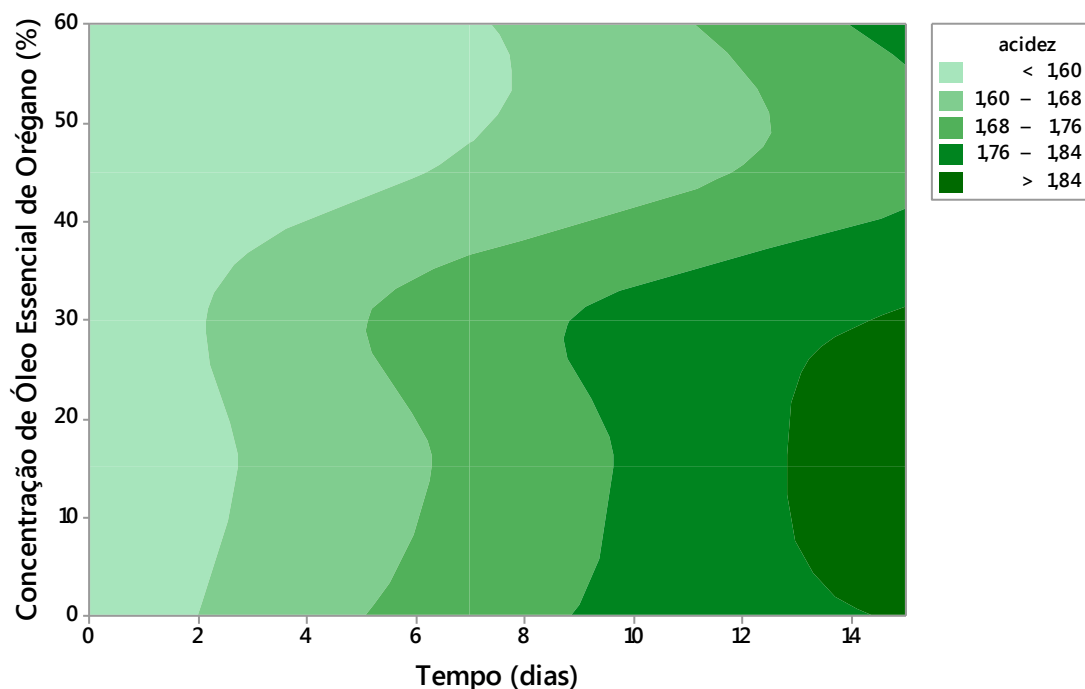
Fonte: Autores (2019).

Os fatores tempo e concentrações do OE de orégano influenciaram na diminuição do pH, significando que houve alterações químicas e enzimáticas do produto embalado.

3.5. Acidez Titulável

A Figura 3 está apresentado os resultados obtidos para acidez titulável dos queijos revestidos com filmes biodegradáveis produzido com glicerol, amido modificado, amido de milho e diferentes concentrações de óleo essencial de orégano.

Figura 3 – Acidez titulável das amostras de queijo embalados com filme biodegradável produzido, em função da concentração de óleo essencial de orégano, em %, e do tempo, em dias. Instituto Federal Baiano, *Campus Guanambi*, 2019.



Fonte: Autores (2019).

A acidez do queijo é um fator importante para assegurar o desenvolvimento da microbiota láctica, bem como manter efetiva as diferentes reações enzimáticas durante a maturação do queijo (SALÄUN et al., 2005). A acidez dos queijos embalados com o filme produzido teve um pequeno aumento ao longo do período de 15 dias de armazenamento.

3.6. Análises Microbiológicas

3.6.1. Análise Microbiológicas do Filme

Ao realizar as análises microbiológicas em amostras do filme produzido, estes não apresentaram contaminação na sua grande maioria. Somente o filme adicionado 30% de OE apresentou contaminação para a bactéria *Staphylococcus aureus*, mas essa contaminação presente no filme não foi transferida para o queijo embalado.

3.6.2. Análise Microbiológica do Queijo

A contaminação microbiana em alimentos reduz sua vida útil além de aumentar o risco de veiculação de doenças. Por esse motivo, as embalagens ativas que contém compostos

antimicrobianos são de grande importância na conservação de alimentos pois vai liberando o composto de forma gradativa (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002).

3.6.2.1. Coliformes Totais

A Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001 não estabelece limites microbiológicos para os coliformes totais (BRASIL, 2001), sendo assim a presença destes é um indicativo da possibilidade da presença de espécies patogênicas servindo também como um parâmetro de avaliação das condições higiênicas do processo. As contagens para este micro-organismo ficaram baixas indicando que o processamento de fabricação do queijo e de produção dos filmes aconteceram em condições higiênico-sanitárias satisfatórias e que o filme produzido utilizado para embalar o queijo foi eficiente no controle deste micro-organismo.

3.6.2.2. Coliformes Termotolerantes

A Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001, estabelece para queijos curados e similares com umidade de 36 a 46%, valores de até $1,0 \times 10^3$ UFC/g para coliformes termotolerantes (BRASIL, 2001). Os resultados encontrados neste trabalho foram todos menores do que preconiza a legislação. Salotti et al. (2006) ao analisarem 30 amostras de queijo Minas verificaram que 66,7% dos queijos apresentaram contagens para coliformes termotolerantes acima dos padrões permitidos.

3.6.2.3. *Escherichia Coli*

Por serem micro-organismos termotolerantes a legislação prevê o máximo de $1,0 \times 10^3$ (BRASIL, 2001). Nas amostras de queijo analisadas durante o período de armazenamento não foram encontradas contagens elevadas para este micro-organismo.

Sanchez-Gonzalez et al. (2011) avaliando a eficiência de filme antimicrobiano de quitosana adicionado com óleo essencial de orégano, verificaram a eficiência da cobertura em inibir ou reduzir o crescimento de cepas *E. coli*. Estudos realizados por Govaris et al. (2011), mostraram a eficiência da atividade antimicrobiana do óleo essencial de orégano e tomilho na diminuição de cepas de *E.coli* durante todo o tempo de armazenamento do queijo Feta (original da Grécia).

3.6.2.4. *Salmonella*

A Resolução RDC nº12 de 02 de janeiro de 2001 estabelece ausência para *Salmonella* spp. em 25g de produto (BRASIL, 2001). O presente trabalho está de acordo com legislação vigente não sendo encontrado crescimento para este micro-organismo. Conforme Pereira et al. (1999) a incidência de *Salmonella* no leite é muito branda, sendo necessário que o rebanho já esteja contaminado ou que o manipulador seja o portador da bactéria. Pode-se relacionar a ausência de *Salmonella* à presença de bactérias lácticas que tornam o queijo um meio desfavorável à sobrevivência de micro-organismos patogênicos ou em decorrência das condições estressantes relacionados ao processamento e a estocagem à qual o alimento foi submetido (MELO et al., 2009; JAY, 2015).

3.6.2.5. *Staphylococcus Aureus*

A RDC nº12 de janeiro de 2001 determina um limite máximo de $1,0 \times 10^3$ (BRASIL, 2001). Neste trabalho não foram encontradas contagens para este micro-organismo, mostrando que existe qualidade higiênica no processo, uma vez que muitas espécies desse gênero colonizam as mãos e mucosas dos seres humanos, como *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. warnery* e *S. xylosus*, (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Segundo Brugnera (2011) em seus estudos com ricota e uso de especiarias obteve-se uma inibição de *S. aureus* de acordo com o aumento da concentração de óleo essencial de orégano utilizado.

3.6.2.6. Fungos Filamentosos

Para fungos filamentosos não houve crescimento ao fim de 15 dias de armazenamento, mostrando a eficiência do filme produzido já que fungos são o grande problema em queijos de média e baixa umidade.

Olivato et al. (2012) que trabalharam com filme a base de amido de inhame para embalar queijo prato, mostraram contaminação com fungos acima de 10^3 UFC/g de produto a partir do 14º dia de armazenamento.

Segundo Souza et al. (2010) a ação antimicrobiana do OE de orégano é devido a interferência do óleo na fisiologia e morfogênese da célula microbiana, sendo essa ação dose dependente.

4. Conclusões

A utilização do filme a base de amido de mandioca na concentração de 30% demonstrou ser uma opção viável para conservação de queijo ralado pois além de ser biodegradável proporcionou o aumento da vida útil do produto. O filme produzido com amido modificado, amido de milho, gelatina, glicerol e OE de orégano mostrou uma instabilidade na perda de massa do queijo embalado.

O filme incorporado com OE de orégano não apresentou efeito antimicrobiano em todas as concentrações utilizadas pois houve inibição do crescimento dos micro-organismos com a utilização de todos os filmes, até mesmo no filme controle (0% de OE). Sendo assim, a ação antimicrobiana pode estar relacionada com os conservantes já presentes no queijo.

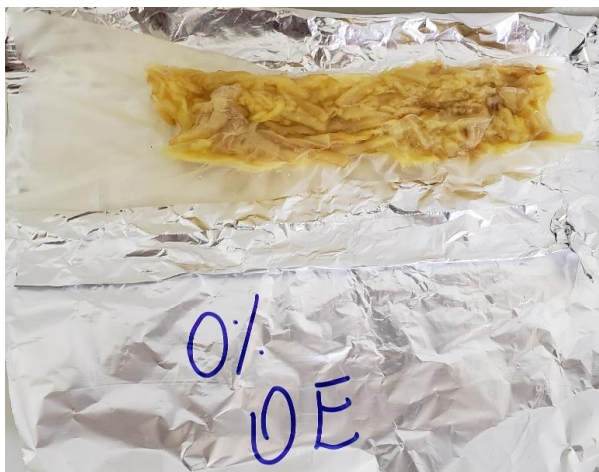
Referências

- APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 3, p. 113-126, 2002.
- BRASIL. Instrução Normativa nº68 de 12 de dezembro de 2006. **Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos, conformidade com o anexo desta Instrução Normativa determinando que sejam utilizados nos Laboratórios Nacionais Agropecuários**. Emissão 04/2013, Página 4.
- BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Aprova o Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RDC_12_2001.pdf/15ffddf6-3767-4527-bfac-740a0400829b> Acesso em 06 de junho de 2019.
- BRUGNERA, D. F. **Ricota: qualidade microbiológica e uso de especiarias no controle de Staphylococcus aureus**. 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.
- GOVARIS, A. et al. Antibacterial activity of orégano and thyme essential oils against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:h7 in feta cheese packaged under modified atmosphere. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44: 1240-1244, 2011.
- JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- OUSSALAH, M.; CAILLET, S.; SALMIERI, S.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, p. 5598-5605, 2004.
- OLIVATO, J.B. GROSSMANN, M.V.E. BILCK, A. P. YAMASHITA F. Effect of organic acids as additives on the performance of thermoplastic starch/polyester blown films. **Carbohydrate Polymers** **90**. 2012.

- MELO, A. C. M. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo tipo Minas Padrão comercializado na cidade de São Luís, Maranhão. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76 (4): 547-551, 2009.
- PEREIRA, M.L. et al. Enumeração de coliformes fecais e presença de Salmonella sp. em queijo minas. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v.51 (5), out. 1999.
- SALÄUN, F.; MIETTONB, B.; GAUCHERON, F. Buffering capacity of dairy products. **International Dairy Journal**, v. 15, n. 22, p. 95-109, 2005.
- SALOTTI, B. M. et al. Qualidade Microbiológica do queijo Minas Frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73 (2): 171-175, 2006.
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; GONZÁLES-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. Physical and antimicrobial properties of chitosan-tea tree essential oil composite filmes. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n. 4, p. 443-452, 2011.
- 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.
- SOUZA, E. L. et al. Influence of Origanum vulgare L. essential oil on enterotoxin production, membrane permeability and surface characteristics of Staphylococcus aureus. **International Journal of Food Microbiology**, v. 137: 308–311, 2010.
- TRAJANO, V.N; LIMA, E.O; SOUZA, E.L; TRAVASSOS, A.E.R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.3, p.542-545, 2009.

ANEXO

Filme controle – 0% de OE de Orégano



Filme com 15% de OE de Orégano



Filme com 45% de OE de Orégano



Filme com 60% de OE de Orégano

