

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE AGRONOMIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ADRIANE ALEXANDRE MACHADO DE MELO

**EFEITO DE FILME ATIVO INCORPORADO COM ÓLEO  
ESSENCIAL DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis* L.) NA  
CONSERVAÇÃO DE CARNE DE FRANGO RESFRIADA**

Goiânia  
2010

ADRIANE ALEXANDRE MACHADO DE MELO

**EFEITO DE FILME ATIVO INCORPORADO COM ÓLEO  
ESSENCIAL DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis* L.) NA  
CONSERVAÇÃO DE CARNE DE FRANGO RESFRIADA**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**Orientador:** Prof. Dr. Robson Maia Geraldine  
**Co-orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Célia Lopes Torres

Goiânia  
2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ADRIANE ALEXANDRE MACHADO DE MELO

**EFEITO DE FILME ATIVO INCORPORADO COM ÓLEO  
ESSENCIAL DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis* L.) NA  
CONSERVAÇÃO DE CARNE DE FRANGO RESFRIADA**

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 20 de agosto de 2010, pela Banca Examinadora constituída pelos membros:

---

Prof. Dr. Diego Palmiro Ramirez Ascheri  
UnUCET/UEG

---

Prof. (ª) Dr. (ª) Katiuchia Pereira Takeuchi  
EA/UFG

---

Prof. Dr. Robson Maia Geraldine  
Orientador – EA/UFG

*Dedico este trabalho aos meus pais  
e a todos os professores e colegas.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela serenidade e conforto diante das dificuldades.

À minha mãe, Joana Alexandre Machado, que muito admiro, amo e respeito, e que tanto se dedicou para que eu alcançasse meus objetivos. Ao meu pai, Orozimbo Machado de Melo, pela confiança, me auxiliando sempre que foi preciso. Muito obrigada aos dois pelo amor incondicional e presença em minha vida. Aos meus irmãos, em especial a minha irmã Admair Alexandre Machado pelo apoio e carinho.

Ao professor Dr. Robson Maia Geraldine, pela orientação, incentivo e confiança, e por contribuir com seus conhecimentos para minha formação.

À professora Dr<sup>a</sup> Maria Célia Lopes Torres, pela co-orientação, me auxiliando em todos os momentos.

À professora Dr<sup>a</sup> Cíntia Silva Minafra e Rezende, pelo apoio, carinho e disposição em todos os momentos.

À professora Dr<sup>a</sup> Miriam Fontes de Araujo Silveira, pelo auxílio e carinho.

À professora Dr<sup>a</sup> Katiuchia Pereira Takeuchi, pelo importante auxílio com as análises mecânicas.

Às amigas Andréia Di Martins Costa, Daniele Andonini, Fernanda Salamoni Becker, Giselle de Lima Paixão e Silva, Jully-Ana Souza Tavares, Karla Rúbia Ananias e Ludmila de Paula Czeder, pelo companheirismo, celebrando os momentos bons e auxiliando nos difíceis. A amizade de cada uma de vocês levarei comigo por toda vida. E ao amigo Thiago Henrique Fernandes pela importante ajuda durante a execução das análises.

Aos professores Dr. Antonio Nonato Oliveira e Dr. Albenones José de Mesquita por me abrirem as portas do Centro de Pesquisa em Alimentos - CPA. À professora Sandra Queiroz Porto de Mesquita, pela paciência e apoio, e a toda equipe do CPA pela atenção e disposição em ajudar.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo conhecimento repassado, aos funcionários, em especial ao técnico Devis Carvalho pelo apoio direto, à Universidade Federal de Goiás pela estrutura e concessão de bolsa de mestrado e à Capes por concessão de auxílio financeiro.

Aos professores membros da banca por contribuírem nesta dissertação.

## RESUMO

A carne de frango resfriada é um alimento bastante perecível, sendo necessária aplicação de métodos de conservação e armazenamento. O estudo de embalagens capazes não só de proteger, mas também de interagir com o alimento é uma crescente, sendo um exemplo as embalagens antimicrobianas, que devido à presença de conservantes, são capazes de retardar ou inibir o crescimento de micro-organismos no produto embalado. Diante disto, o objetivo desta pesquisa foi desenvolver embalagem biodegradável incorporada com agente antimicrobiano natural (filme ativo), avaliar suas propriedades mecânicas e seu efeito *in vitro* sobre o crescimento de mesófilos e avaliar a contagem de psicrotróficos e coliformes totais e as características físicas e químicas de peitos de frango resfriados nele acondicionados. Foram produzidos filmes ativos a base de celulose incorporados com diferentes concentrações (10, 20, 30, 40 e 50%, v/p) de óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e os resultados foram submetidos à análise de variância e teste para comparação de médias (Tukey,  $p < 0,05$ ). Filmes incorporados com 10, 20 e 30% se mostraram os mais resistentes, sendo que os filmes com 10 e 20% foram, também, os mais rígidos, enquanto a elongação não variou entre os tratamentos. A análise *in vitro* dos filmes revelou que uma concentração entre 10 e 20% de óleo essencial foi requerida para reduzir o crescimento dos mesófilos coletados de amostras de peito de frango, e que o crescimento microbiano sob os filmes foi o mesmo nas quatro maiores concentrações. Contudo, filmes incorporados com 20% de óleo essencial e intercalados em amostras de peito de frango não mostraram efeito significativo no controle de micro-organismos psicrotróficos ou coliformes totais durante o período de armazenamento (9 dias,  $2 \pm 2^\circ\text{C}$ ), mas filmes incorporados com 50% de óleo essencial mostraram-se eficientes no controle do crescimento de micro-organismos do grupo coliformes, durante o armazenamento das amostras (6 dias,  $2 \pm 2^\circ\text{C}$ ), sem alterar a cor das mesmas. A concentração de óleo essencial de alecrim nos filmes influenciou suas propriedades mecânicas e afetou o crescimento de micro-organismos mesófilos *in vitro* e, a 50%, o filme reduziu o crescimento de coliformes em peito de frango resfriado.

Palavras-chave: embalagem ativa, acetato de celulose, antimicrobiano, *Rosmarinus officinalis* L., óleo essencial, carne de frango.

**EFFECT OF ACTIVE FILM EMBEDDED WITH ESSENTIAL  
ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis* L.) OIL ON THE  
CONSERVATION OF CHILLED CHICKEN**

**ABSTRACT**

The chilled chicken is highly perishable food that requires the application of conservation and storage methods. Studies on packaging that are able not only to protect, but also to interact with the food have been increasing, as antimicrobial packaging for example that, due to the presence of preservatives, are able to retard or inhibit the growing of microorganisms in the packed product. The objectives of this study were to develop biodegradable packaging embedded with natural antimicrobial agent (active film); assess its mechanical properties and its effect *in vitro* on the mesophilic microorganisms and assess the counts of psychrotrophic and total coliforms and the physical and chemical characteristics of chilled chicken packed in it. It was produced cellulose-based active films embedded with different concentrations (10, 20, 30, 40 and 50%, v/w) of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and analysis of variance and mean comparison tests (Tukey  $p < 0.05$ ) were performed on the results. Films embedded with 10, 20 and 30% were shown to be the most resistant ones, and the films with 10 and 20% were also the hardest ones, while the elongation weren't shown to have variation among treatments. *In vitro* analysis of the films showed that the concentrations between 10 and 20% of essential oil were necessary in order to reduce the growing of mesophilic collected in samples of chicken chest and that the microbial growth on the films was the same of the four biggest concentrations. However, films embedded with 20% of essential oil and alternated in samples of chicken chest didn't show any significant effect on the control of psychrotrophic microorganisms or total coliforms during the storage period (9 days,  $2 \pm 2^\circ\text{C}$ ), but films embedded with 50% of essential oil were shown to be efficient on the control of microorganisms growth of coliform groups, during the storage of the samples (6 days,  $2 \pm 2^\circ\text{C}$ ), without color alteration. The essential oil of rosemary concentration on the films influenced its mechanical properties and also affected the mesophilic microorganisms growth *in vitro* and, with 50% the film reduced the coliforms growth in chilled chicken chest.

**Key words:** active packaging, cellulose acetate, antimicrobial, *Rosmarinus officinalis* L., essential oil, chicken.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	8
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	9
2.1	CARNE DE FRANGO RESFRIADA .....	9
<b>2.1.1</b>	<b>Contaminação da carne de frango resfriada</b> .....	10
2.1.1.1	Micro-organismos deteriorantes .....	11
2.1.1.2	Micro-organismos patogênicos .....	12
2.1.1.3	Micro-organismos indicadores .....	14
2.2	EMBALAGENS ATIVAS ANTIMICROBIANAS .....	15
<b>2.2.1</b>	<b>Polímeros</b> .....	16
<b>2.2.2</b>	<b>Antimicrobianos</b> .....	18
<b>2.2.3</b>	<b>Modo de ação dos antimicrobianos incorporados em embalagens</b> .....	19
<b>2.2.4</b>	<b>Considerações quanto ao uso de embalagens antimicrobianas</b> .....	21
<b>2.2.5</b>	<b>Propriedades mecânicas das embalagens antimicrobianas</b> .....	22
2.3	ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM .....	24
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	27
3.1	OBJETIVO GERAL .....	27
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	27
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	28
4.1	ELABORAÇÃO DOS FILMES ATIVOS .....	28
4.2	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA <i>IN VITRO</i> DOS FILMES .....	28
4.3	PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES .....	29
4.4	EFEITO DOS FILMES NA CONSERVAÇÃO DE CARNE DE FRANGO RESFRIADA .....	29
<b>4.4.1</b>	<b>Montagem das bandejas</b> .....	29
<b>4.4.2</b>	<b>Análises microbiológicas</b> .....	31
<b>4.4.3</b>	<b>Determinação do valor de pH e análise de cor</b> .....	31
4.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS .....	31
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	33
5.1	ATIVIDADE ANTIMICROBIANA <i>IN VITRO</i> DOS FILMES .....	33
5.2	PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES .....	37
5.3	EFEITO DOS FILMES NA CONSERVAÇÃO DE CARNE DE FRANGO RESFRIADA .....	41
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	49
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	50
	<b>ANEXOS</b> .....	67

## 1 INTRODUÇÃO

A carne é uma das fontes de proteína mais consumidas pela população em todo o mundo. Nos países emergentes, à medida que aumenta a renda da população urbana cresce também o consumo de carne, produto que é, historicamente, objeto de desejo do consumidor (CASTEDO, 2009).

O Brasil lidera o mercado mundial de carnes, comercializando o produto resfriado, congelado ou, ainda, industrializado. Alguns consumidores preferem a carne resfriada por associarem a uma carne mais fresca (NEVES; ROSSI; MELO, 2005), mas, a vida-de-prateleira da carne resfriada é bastante inferior a da carne congelada, devido, sobretudo, a alterações causadas por micro-organismos patogênicos e/ou deteriorantes oriundos do processo de criação e abate das aves e processamento da carne (PARDI et al., 2006).

Para atuar sobre micro-organismos deteriorantes, e até mesmo sobre patogênicos, alguns estudos citam o uso de agentes antimicrobianos sintéticos, procedimento que esbarra, principalmente, na demanda dos consumidores por produtos naturais, o que levou pesquisadores e produtores a buscarem compostos alternativos que pudessem exercer a mesma função ao passo que oferecessem um risco consideravelmente menor à saúde dos consumidores (DEVLIEGHIERE; VERMEIREN; DEBEVERE, 2004). Um exemplo de produto natural com propriedades antimicrobianas é o óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) (HUSSAIN, 2009).

Uma tecnologia emergente é o uso de embalagens ativas, ou seja, embalagens que contem substâncias capazes de melhorar a qualidade do alimento ou mantê-la por um tempo maior. Um exemplo de embalagem ativa são as embalagens antimicrobianas, cujos compostos atuam sobre micro-organismos deteriorantes e/ou patogênicos, inativando-os ou controlando, de alguma maneira, o seu desenvolvimento (QUINTAVALLA; VICINI, 2002).

Diante do exposto, uma possibilidade tecnológica à carne de frango resfriada seria o uso de embalagens ativas com antimicrobianos naturais, que agiriam de modo a retardar ou impedir o crescimento de micro-organismos deteriorantes e até mesmo patogênicos, aumentando a vida-de-prateleira deste produto e sem prejuízos a saúde do consumidor.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CARNE DE FRANGO RESFRIADA

Atualmente, o Brasil é referência no mercado de carnes, liderando as exportações mundiais de carne bovina e aves e com uma forte presença no mercado de carne suína (ABIEC, 2009; OLIVO, 2009). Segundo a Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frango (ABEF, 2009), em 2009 o país exportou 3,6 milhões de toneladas de carne de frango, sendo o Oriente Médio o principal comprador. O consumo interno também é bastante significativo, já que, em 2008, cada brasileiro consumiu uma média de 39 kg de carne de aves, 3,6% a mais que no ano anterior, confirmando a tendência de um aumento anual no consumo deste tipo de carne (OLIVO, 2009).

A Portaria nº 210 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1998) define carne de aves como “a parte muscular comestível das aves abatidas, declaradas aptas à alimentação humana por inspeção veterinária oficial antes e depois do abate”, e entre os animais incluídos nesta classificação está o gênero *Gallus*, do qual fazem parte frangos, galinhas e galos. Em relação a composição nutricional, de acordo com a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (UNICAMP, 2006), o frango inteiro cru, sem pele, contém 74,9% de umidade, 20,6% de proteína e 4,6% de lipídeo, enquanto o peito de frango cru, sem pele, contém quantidade próxima de umidade (74,8%), um pouco mais de proteína (21,5%) e menos lipídeo (3,0%).

O valor de pH em peitos de frango, 24 horas após o abate dos animais, é variável, sendo comum valores entre de 5,7 e 5,9 (LEITÃO, 2001). Aferições deste valor durante o período de armazenamento servem para, juntamente com outros parâmetros de qualidade, determinar o estado de conservação da carne (SKRÖKKI, 1997), já que é comum, sob aerobiose, um aumento no valor de pH pela formação de substâncias básicas resultantes do metabolismo das bactérias deteriorantes (MANO; PEREDA; FERNANDO, 2002).

A cor da carne é um importante atributo que influencia diretamente na decisão de compra do consumidor, uma vez que é usada como indicativo de qualidade QIAO et al., 2002). A carne de frango apresenta coloração branca, podendo variar de cinza a vermelho pálido (VENTURINI; SARCINELLI; SILVA, 2007), sendo este parâmetro frequentemente avaliado por colorímetros comerciais que utilizam a escala de cores CIE (Comission Internacionale de L'Eclairage)  $L^*a^*b^*$  (BARBUT, 2001), onde  $L^*$  indica a luminosidade,  $a^*$

indica a intensidade de cor vermelha e  $b^*$  a intensidade de cor amarela (RIBEIRO et al., 2007), de modo que juntos estes parâmetros indicam a cor.

A carne de frango *in natura* é comercializada em carcaça, cortes (parte ou fração da carcaça) ou recortes (parte ou fração do corte), necessariamente resfriados, ou então, congelados (BRASIL, 1998), já que se trata de um alimento bastante perecível em que é necessária a aplicação de métodos de conservação e armazenamento para, basicamente, retardar ou evitar alterações que acabam por comprometer sua qualidade (PARDI et al., 2006). Estas alterações estão relacionadas, principalmente, ao crescimento de micro-organismos deteriorantes e até mesmo patogênicos (JAY, 2005).

O resfriamento é um método de conservação pelo frio que reduz a taxa de crescimento dos micro-organismos deteriorantes e previne o crescimento da maioria dos micro-organismos patogênicos (JAMES et al., 2006). A carne de aves resfriada é aquela que foi submetida a refrigeração para atingir, e devendo posteriormente manter, uma temperatura entre 0°C e 4°C (na intimidade das peças), com tolerância de 1°C (BRASIL, 1998).

Para o consumidor, praticamente não há diferença de preço entre carnes resfriadas e congeladas (CEPEA, 2010), então, a preferência de alguns pela carne resfriada parece relacionada ao fato desta ser associada a uma carne mais fresca (NEVES; ROSSI; MELO, 2005; NUNES; CASTRO, 2007). Mas, a vida-de-prateleira da carne resfriada é curta, varia de três a 10 dias e não ultrapassa duas semanas (PINTO et al., 2005; RITTER; BERGMANN, 2003), o que pode gerar perdas para indústria, comerciantes e até para o consumidor. A deterioração está relacionada, sobretudo, a micro-organismos advindos de contaminação industrial durante o abate e processamento (PARDI et al., 2006), e às condições favoráveis para o crescimento destes micro-organismos, como temperatura durante o transporte e armazenamento e atmosfera na embalagem (ICMSF, 2005 apud BUNKOVÁ et al., 2010).

### **2.1.1 Contaminação da carne de frango resfriada**

A contaminação da carne pode ocorrer nas etapas de manejo durante a criação, durante o abate em etapas críticas como depenagem, escaldagem, evisceração e resfriamento, pela manipulação das carcaças pelos funcionários ou até mesmo pelo ambiente e água contaminados (CARVALHO, CORTEZ; 2005; RODRIGUES et al., 2008; TSOLA; DROSINOS; ZOIPOULOS, 2008; VON RÜCKERT et al., 2009). Além disso, o conteúdo intestinal das aves é apontado como uma fonte primária de contaminação (SANTOS, 2008), de modo que os micro-organismos presentes podem alcançar a musculatura, principalmente, a partir de alguma lesão (MIYAGUSKU et al., 2003). A carne pode ser contaminada por micro-

organismos patogênicos, o que é especialmente preocupante, uma vez que pode comprometer a saúde do consumidor, e/ou por micro-organismos deteriorantes, comprometendo a vida-de-prateleira do produto (MEAD, 2004).

Dentre os micro-organismos identificados na carne de frango *in natura* há mesófilos e psicrotróficos, mas em decorrência do processo de resfriamento, com o tempo, predominam os psicrotróficos (ÁLVAREZ-ASTORGA et al., 2002), que crescem bem sob essas temperaturas (JAY, 2005; PARDI et al., 2006). Há mais espécies e linhagens de bactérias Gram negativas que crescem, na carne de frango, em temperaturas abaixo de 7°C do que espécies e linhagens de Gram positivas, e a maioria dos patógenos não é capaz de se multiplicar quando abaixo de 7°C, sendo uma importante exceção a *Listeria monocytogenes* (BERSOT et al., 2008; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005; PELISSER et al., 2001).

Na carne de aves podem ser encontrados: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Arcobacter*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens*, *Corynebacterium*, *Escherichia coli* O157, *Helicobacter*, *Listeria monocytogenes*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Staphylococcus* coagulase positivo, *Shewanella* (JAY, 2005; KOCA; SARIMEHMETOGLU, 2009; MEAD, 2004, PEPE et al., 2006; SILVA; DUARTE, 2002), dentre outros. Mas de acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), que estabelece padrões microbiológicos sanitários para alimentos, no item 5b do anexo I, a carne de frango *in natura* resfriada ou congelada, em carcaça inteira ou cortes, para ser comercializada deve obedecer apenas um limite para coliformes a 45°C, sendo que o produto é considerado inaceitável quando o resultado ultrapassa  $10^4$  UFC.g<sup>-1</sup> de carne.

#### 2.1.1.1 Micro-organismos deteriorantes

Um produto é considerado deteriorado quando sofreu danos por agentes microbiológicos, químicos ou físicos que o tornaram impróprio para o consumo (PARDI et al., 2006). O elevado teor de nutrientes, a alta atividade de água e pH próximo a neutralidade tornam a carne de aves bastante susceptível a deterioração (HOFFMAN; GARCIA-CRUZ; VINTURIM, 1995 apud SANTOS, 2008), sendo as bactérias os principais micro-organismos envolvidos no processo (SUNDHEIM; SLETTEN; DAINTY, 1998), com algumas leveduras associadas (ECONOMOU et al., 2009; HINTON; CASON; INGRAM, 2002).

A carne de frango resfriada quando embalada sob aerobiose, ou seja, sob condições que permitem altos níveis de potencial de oxi-redução (sem uso de filmes de alta barreira ou atmosfera modificada, por exemplo), fica susceptível a deterioração por micro-organismos

aeróbios, que predominam na superfície do produto em razão da presença de oxigênio (PARDI et al., 2006). Os principais micro-organismos envolvidos no processo de deterioração da carne de frango resfriada, armazenada sob aerobiose, pertencem ao gênero *Pseudomonas*, mas, em menor número, outras bactérias Gram negativas, como *Acinetobacter*, *Moraxella* e *Psychrobacter* (MEAD, 2004) e Gram positivas, como *Brochothrix thermosphacta* (LABADIE, 1999), são encontradas. Bactérias da família *Enterobacteriaceae*, como *Escherichia coli*, os gêneros *Pantoea* sp., *Serratia* sp. e *Klebsiella* sp. e outros, também são encontradas (BUNKOVÁ et al., 2010).

Ao gênero *Pseudomonas* pertencem bactérias Gram negativas que vivem especialmente no solo e na água, produtoras de enzimas proteolíticas e lipolíticas e, no caso de algumas espécies, produtoras de pigmentos fluorescentes, como a *Pseudomonas fluorescens*, que produz pigmento esverdeado e está frequentemente associada à deterioração de carne *in natura* (GAVA; SILVA; FRIAS, 2008).

O metabolismo de bactérias do gênero *Aeromonas* sp., *Pseudomonas* e a família *Enterobacteriaceae* gera compostos como amônia e aminas biogênicas ao utilizar aminoácidos e compostos nitrogenados como fonte de energia (BUNKOVÁ et al, 2010; FRAQUEZA; FERREIRA; BARRETO, 2007), sendo estes metabólitos os principais responsáveis pelo odor desagradável da carne de frango deteriorada (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). A carne deteriorada apresenta aparência viscosa, sabor desagradável, alterações na cor, odor pútrido e até mesmo pontos de crescimento superficial (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Os odores indesejáveis normalmente são percebidos antes da limosidade (aparência viscosa) e, normalmente, são detectados quando a contagem total de micro-organismos se encontra entre  $10^7$  e  $10^8$  UFC.g<sup>-1</sup>, por isso muitos autores estabeleceram que carnes de frango com uma contagem acima deste valor são consideradas deterioradas e inaceitáveis para o consumo (DICKENS; INGRAM; HINTON JR, 2004; ECONOMOU et al., 2009; JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005).

#### 2.1.1.2 Micro-organismos patogênicos

Embora a maioria dos micro-organismos patogênicos não se desenvolva em carnes resfriadas a sua presença é potencialmente perigosa, isto porque a refrigeração é um método de conservação que dificulta a multiplicação da maioria destes micro-organismos, podendo levar a morte de algumas células por injúria, mas não de todas, deixando células viáveis que podem causar enfermidade (GAVA, 2002). Entre os patogênicos capazes de se multiplicarem

sob refrigeração estão a *Listeria monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* e *Yersinia enterocolitica* (COSTA; ROSSI JÚNIOR, 2002; PELISSER et al., 2001; TEODORO et al., 2006).

Dentre os micro-organismos patogênicos transmitidos pela carne de frango destacam-se *Salmonella*, *Campylobacter* spp., *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* enteropatogênica, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* (CARVALHO; COSTA; CARVALHO, 2002; MEAD, 2004), comumente associados à operacionalização insatisfatória das etapas de processamento (CARVALHO; COSTA; CARVALHO, 2002). A *Salmonella* é o patógeno mais significativo (HAFEZ, 2005).

Do gênero *Salmonella* fazem parte bactérias Gram negativas da família *Enterobacteriaceae*, anaeróbias facultativas que podem crescer na presença de oxigênio. Há apenas duas espécies neste gênero, algumas subespécies e inúmeros sorovares (mais de 2.400 já identificados) (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). A ocorrência e a quantidade deste micro-organismo na carne de frango variam de acordo com as condições de manejo durante a criação e com os cuidados higiênicos nas operações de abate dos animais e posterior manipulação dos produtos (CARVALHO; CORTEZ, 2005).

A salmonelose é uma das doenças transmitidas por alimentos (DTAs) mais comuns e de distribuição mundial, sendo os produtos de origem animal os principais responsáveis pela infecção humana, com destaque para os ovos e seus derivados (SILVA; DUARTE, 2002). Normalmente, a infecção causa doença gastrointestinal, mas alguns sorovares específicos são invasivos (FIELDS, 2009) e desencadeiam outros quadros, como septicemia e meningite (CHIAPPINI et al., 2002). O difícil controle na cadeia produtiva e o número significativo de pessoas afetadas pelo patógeno representam um custo elevado para a sociedade, tanto que várias medidas vem sendo tomadas para reduzir este impacto na saúde pública (SILVA; DUARTE, 2002).

No Brasil, foi instituído, em 2003, o monitoramento microbiológico e controle de *Salmonella* sp. em carcaças de frangos e perus, para verificar a prevalência do micro-organismo, gerar dados para monitoramento e tomada de ações e, por fim, garantir a inocuidade dos produtos (BRASIL, 2003a). “O *Codex Alimentarius* recomenda a ausência de qualquer sorovar de *Salmonella* em 25 gramas de amostra analisada, incluindo carne de aves e ovos” (SILVA; DUARTE, 2002).

Outro importante agente de DTAs é o gênero *Staphylococcus* spp., que engloba bactérias Gram positivas, anaeróbias facultativas e algumas coagulase positiva, ou seja, capazes de produzir enzima coagulase (JAY; LOESSNER; GOLDEN, 2005). A principal

espécie envolvida nas DTAs é o *Staphylococcus aureus*, uma espécie coagulase positiva que tem cepas capazes de produzir enterotoxinas termoestáveis que, quando ingeridas, causam intoxicações alimentares (ISIGIDI et al., 1992; PARDI et al., 2006). Nem todos os *Staphylococcus* sp. são coagulase positiva, mas a ocorrência de intoxicações é frequentemente associada a cepas com reação positiva para o teste de coagulase (STAMFORD et al., 2006), e por este motivo, as análises de rotina para produtos destinados ao comércio no Mercado Comum do Sul (MERCOSUL) são conduzidas até o teste de coagulase, sem que seja necessário identificar a(s) espécie(s) (BRASIL, 2003b).

Embora seja apontada a ocorrência de *S. aureus* em carne de frango resfriada (ÁLVAREZ-ASTORGA et al., 2002; FREITAS et al., 2004), em função da temperatura, é quase improvável a produção de enterotoxinas (SCHMITT; SCHULER-SCHMID; SCHMIDT-LORENZ, 1990). A presença do micro-organismo neste alimento torna-se um perigo potencial se, no momento do preparo, o produto não for adequadamente tratado pelo calor (PEPE et al., 2006), permitindo que micro-organismos sobrevivam e se multipliquem a ponto de atingir contagens acima de  $10^5$  UFC.g<sup>-1</sup>, quando tem início a produção de toxinas (BALABAN; RASOOLY, 2000).

#### 2.1.1.3 Micro-organismos indicadores

“Micro-organismos indicadores são grupos ou espécies de micro-organismos que, quando presentes no alimento, sinalizam a ocorrência de contaminação de origem fecal, provável presença de patógenos, deterioração potencial do alimento, ou ainda, condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento” (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Os micro-organismos deteriorantes também são considerados indicadores, pois indicam as condições gerais do alimento (DICKENS; INGRAM; HINTON JR, 2004). A presença do gênero *Staphylococcus* spp. em número elevado indica falhas de higiene, principalmente na manipulação, além do perigo potencial à saúde pública pela presença de enterotoxinas (FRANCO; LANDGRAF, 1996; OLIVEIRA et al., 2003). Os coliformes termotolerantes são indicadores que, além de refletir as condições higiênico-sanitárias durante a produção e/ou armazenamento, levantam a suspeita de patógenos de origem entérica associados, advindos da mesma fonte de contaminação (RAY, 2003).

Os coliformes termotolerantes são bactérias Gram negativas de origem fecal, aeróbias ou anaeróbias facultativas, capazes de fermentar a lactose com produção de gás após 24 a 48 horas sob temperaturas de 45°C (RAY, 2003). Nestas condições, até 90% destes

micro-organismos são *Escherichia coli* (FRANCO; LANDGRAF, 1996). Estudos mostram a presença de coliformes termotolerantes em carcaças de frango coletadas no decorrer do processo de abate e resfriamento e, embora a passagem das carcaças pelo *chiller* (resfriadores contínuos) promova uma redução significativa nas contagens, não elimina totalmente os micro-organismos (RODRIGUES et al., 2008).

A presença de coliformes termotolerantes indica contaminação de origem fecal, sinalizando, portanto, um produto de baixa qualidade, o uso de equipamentos ou utensílios sujos ou ainda a manipulação sem cuidados de higiene em algum momento da produção, armazenamento e/ou preparo (DE SOUSA et al., 2002; GONZALEZ et al., 2003). No processo de abate de aves a contaminação das carcaças com micro-organismos de origem fecal constitui o maior perigo durante estas atividades (FLORENTINO et al., 1997) e embora sua presença não cause, necessariamente, danos a saúde dos consumidores, algumas cepas de *Escherichia coli* são patogênicas e causam distúrbios gastrointestinais, urinários e/ou do sistema nervoso central (KORNACKI; JOHNSON, 2001).

## 2.2 EMBALAGENS ATIVAS ANTIMICROBIANAS

É sabido que o consumidor anseia por alimentos que se assemelhem ao máximo ao *in natura*, que estejam prontos para o consumo ou que sejam facilmente preparados, que contenham menos conservantes e que sejam totalmente seguros (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002; SOARES et al., 2009) já que a incidência de surtos de origem alimentar é algo preocupante (TAJKARIMI; IBRAHIM; CLIVER, 2010). Dentre as alterações que ocorrem no alimento a microbiológica é a principal, uma vez que pode afetar diretamente a saúde do consumidor (SILVEIRA, 2005). Muitos são os métodos de conservação utilizados para reduzir alterações indesejáveis na carne e prolongar a sua vida-de-prateleira, podendo ser citados o uso de calor, frio, secagem e conservantes químicos (COMA, 2008), entre outros, mas, em carnes *in natura*, a maioria destes métodos não pode ser aplicada, uma vez que alteram características sensoriais do produto (QUINTAVALLA; VICINI, 2002).

As embalagens em alimentos, além de parte da estratégia de *marketing* das indústrias e foco do consumidor que busca conveniência e praticidade, também constituem um método de conservação, uma vez que formam uma barreira física entre o produto e o meio ambiente, impedindo a contaminação pós-embale (ÁLVAREZ, 2000) e algumas alterações bioquímicas e microbiológicas no produto (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2004). Mas embora seja

um importante método de barreira, a chamada “embalagem passiva” limita-se a proteger o alimento de condições externas (SOARES et al., 2009).

Nos últimos anos, os pesquisadores se dedicaram ao estudo de embalagens capazes não só de proteger, mas também de interagir com o produto (OLIVEIRA, 2002). Assim surgiram as embalagens ativas, que são “um tipo de embalagem que altera as condições do embalado, de modo a aumentar sua vida-de-prateleira ou melhorá-lo em termos de segurança alimentar ou características sensoriais, enquanto mantém a qualidade do alimento”. Nestas embalagens podem ser incorporados aditivos ou outros compostos (KERRY; O’GRADY; HOGAN, 2006) cuja função ativa pode ser de absorção de oxigênio, etileno, umidade, dióxido de carbono e/ou sabores/odores; ou de liberação de dióxido de carbono, agentes antimicrobianos, antioxidantes e/ou sabores (VERMEIREN et al., 1999).

As embalagens ativas antimicrobianas visam reduzir a taxa de crescimento populacional e/ou estender a fase *lag* e/ou inativar por contato os micro-organismos alvo presentes no alimento ou na embalagem em si (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002; QUINTAVALLA; VICINI, 2002). Nesta tecnologia há: sachês ou pastilhas que contenham antimicrobianos voláteis; polímeros cujos filmes apresentam atividade antimicrobiana inerente ou, segundo Coma (2008), que sofrem algum tipo de modificação que resulta em atividade antimicrobiana; polímeros revestidos, adsorvidos ou com antimicrobianos imobilizados; e polímeros incorporados de antimicrobianos voláteis ou não voláteis (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002). Com exceção dos sistemas em que são utilizados agentes voláteis, o contato direto entre a embalagem ativa e o alimento é necessário para que ocorra a migração do antimicrobiano da embalagem para o mesmo, ou para que os compostos ativos tenham acesso aos micro-organismos alvo (quando não ocorre migração da embalagem para o alimento) (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002; COOKSEY, 2001).

É válido citar que na tecnologia de embalagens ativas há os filmes e os revestimentos. Os filmes são películas finas previamente formadas e só então aplicadas no produto, como envoltório ou entre as camadas do mesmo. Revestimentos são filmes formados no produto, cuja base é aplicada diretamente sobre a superfície do mesmo, onde ocorre a secagem e, assim, a formação do filme, com a função de protegê-lo ou, de alguma maneira, melhorá-lo, permanecendo durante o uso e até durante o consumo (KROCHTA, 2002).

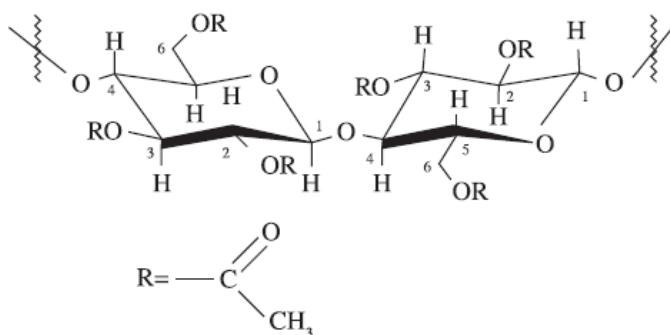
### **2.2.1 Polímeros**

Os polímeros sintéticos comumente utilizados na produção de filmes revestidos ou adsorvidos, imobilizados ou incorporados são o polietileno (PE), cloreto polivinil (PVC),

álcool polivinil (PVA), ácido poliláctico (PLA), nylon, além de outros. Mas, é cada vez maior o interesse por polímeros comestíveis, como os feitos com quitosana (DUTTA et al., 2009) e também por polímeros biodegradáveis, como os a base de celulose (COOKSEY, 2005; THARANATHAN, 2003). O ponto positivo no uso de polímeros biodegradáveis é atender a crescente demanda por materiais de embalagem que não gerem impactos ambientais negativos (SILVEIRA, 2005).

O uso de filmes a base de celulose já se mostrou bastante eficiente na tecnologia de embalagem ativa. Resultados positivos foram obtidos com pediocina e nisina fixadas em embalagens a base de celulose, caracterizando um invólucro capaz de inibir completamente o crescimento de *Listeria monocytogenes* em peito de peru, presunto e carne bovina. A tecnologia pertence a um fabricante de envoltórios a base deste polímero (KERRY; O'GRADY; HOGAN, 2006).

O acetato de celulose é um composto biodegradável (DAVIS, 2003) produzido por acetilação da celulose, ou seja, reação da celulose com ácido acético e anidrido acético, utilizando o ácido sulfúrico como catalizador (SASSI; CHANZY, 1995). O produto desta reação apresenta até três radicais acetato para cada unidade fundamental da celulose (CERQUEIRA et al., 2010; OLIVEIRA JR, 2002) (Figura 1), e os diferentes graus de acetilação afetam propriedades como a solubilidade e a biodegradabilidade do composto (EDGAR et al., 2001).



**Figura 1.** Estrutura do acetato de celulose, sendo R o radical acetato, que pode chegar a três unidades por monômero.

Fonte: CERQUEIRA et al, 2010.

O polímero acetato de celulose é amorfo, não tóxico e inodoro, estável em óleos minerais, permeável a vapor d'água e, dependendo do grau de substituição (número médio de grupos acetila por unidades glicosídicas), solúvel em acetona (OLIVEIRA JR, 2002). À partir deste polímero é possível formar filmes transparentes (CERQUEIRA et al., 2010), essencialmente rígidos, ou seja, que suportam alta tensão a temperatura ambiente, e com certa

flexibilidade (PUC-RIO, 2010). Filmes a base de acetato de celulose tem sido produzidos e utilizados em alimentos (SILVEIRA, 2005).

Polímeros biodegradáveis podem ser obtidos não só de celulose, mas também de amido, proteína do leite, germe de trigo e outros compostos naturais (SILVEIRA, 2005). Os filmes tem flexibilidade variável, são transparentes e resistentes (THARANATHAN, 2003), além de solúveis em água a ponto de liberar de maneira efetiva o antimicrobiano quando utilizados em alimentos com alto teor deste composto (COOKSEY, 2005).

### **2.2.2 Antimicrobianos**

Dentre os antimicrobianos utilizados em embalagens estão alguns óleos essenciais (OJAGH et al., 2010; ROJAS-GRAÜ et al., 2007; SEYDIM; SARIKUS, 2006), ácidos orgânicos e seus anidridos, bacteriocinas, enzimas (HAN; FLOROS, 1997; MING et al., 1997; PADGETT; HAN; DAWSON, 1998; WENG; CHEN, 1997), quelantes (COMA, 2008) e metais. Um exemplo comercial é o AgION<sup>®</sup>, cujo componente ativo é a prata, um poderoso íon de amplo espectro que pode ser incorporado (ÁLVAREZ, 2000; APPENDINI; HOTCHKISS, 2002; COMA, 2008).

O crescente interesse pela incorporação, nas embalagens, de antimicrobianos naturais, como os encontrados em diversos condimentos, se baseia na demanda do consumidor por alimentos com menos aditivos sintéticos (DEVLIEGHERE; VERMEIREN; DEBEVERE, 2004). A maioria dos óleos e extratos de plantas é considerada GRAS (geralmente reconhecidas como seguras) podendo ser utilizada para contato direto com o alimento, sem prejuízos a saúde do consumidor (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002).

O uso de óleos alimentícios de origem vegetal em embalagens é autorizado no Brasil sem restrições (BRASIL, 2008). O único empecilho no uso destes agentes parece ser a baixa concentração dos compostos antimicrobianos nos óleos e extratos, que torna necessária uma incorporação de grandes quantidades nas embalagens para garantir a da concentração inibitória mínima (CIM) (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002), podendo alterar as características sensoriais do alimento de maneira negativa (COMA, 2008).

Vários trabalhos reportam o uso de óleos essenciais em alimentos (BURT, 2004; FISHER; PHILLIPS, 2008; HARPAZ et al., 2003; OUATTARA et al., 1997) e outros apresentam a atividade antimicrobiana do alecrim, cravo, canela, cássia, erva-doce, tomilho, orégano, hortelã-pimenta, pimenta, noz-moscada, manjeriço (GENENA et al., 2008; MATAN et al., 2006; NASCIMENTO et al., 2000; SUPPALKU et al., 2003; VASINAUSKIENE et al., 2006; ZHANG et al., 2009), dentre outros condimentos.

O uso de óleos essenciais em embalagens para aumentar a vida-de-prateleira de carnes resfriadas está descrito na literatura. Filmes a base de quitosana e gelatina incorporados com 0,75% (v/p) de óleo essencial de cravo (*Syzygium aromaticum* L.) foram aplicados em carne de bacalhau (*Gadus morhua*) e o sistema armazenado a vácuo e sob refrigeração ( $2 \pm 1^\circ\text{C}$ ). Os filmes reduziram significativamente o crescimento de bactérias Gram negativas, especialmente da família *Enterobacteriaceae*, mostrando que a embalagem poderia aumentar a vida-de-prateleira da carne (GÓMEZ-ESTACA et al., 2010). Já filmes a base de proteína isolada de soro de leite incorporados com 1,5% (p/p) de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* sp. *Hirtum*) reduziram a contagem total de micro-organismos, *Pseudomonas* spp. e bactérias ácido lácticas em cortes de carne bovina *in natura* durante armazenamento sob refrigeração ( $5 \pm ^\circ\text{C}$ ) (ZINOVIADOU; KOUTSOUMANIS; BILIADERIS, 2009).

Os compostos fenólicos são os principais responsáveis pelas propriedades antibacterianas em vários óleos essenciais, mas em função da gama de componentes encontrados, o mais plausível é que a ação não esteja relacionada à apenas um mecanismo ou composto, mas sim, a um combinado de substâncias (BURT, 2004; CORBO et al., 2009). Os mecanismos de atuação dos agentes não estão bem definidos, de modo que pode haver ataque à camada de fosfolipídios da membrana celular, bloqueio de sistemas enzimáticos, comprometimento do material genético dos micro-organismos e, ainda, formação de poderosos oxidantes, como as hidroxidases de ácidos graxos (TAJKARIMI; IBRAHIM; CLIVER, 2010).

### **2.2.3 Modo de ação dos antimicrobianos incorporados em embalagens**

Uma vez incorporados nos polímeros e em contato com o alimento, pode ocorrer uma migração lenta e constante dos agentes bactericidas e/ou bacteriostáticos, por difusão ou separação, para a superfície do produto, de modo que a atividade antimicrobiana se prolonga e ocorre mais intensamente onde se faz necessário, ou seja, na superfície, sendo esta a principal vantagem frente ao uso de antimicrobianos por outros meios, como imersão ou *spray* (COMA, 2008; HAN, 2000; PÉREZ-PÉREZ et al., 2006; QUINTAVALLA; VICINI, 2002). O uso em embalagem também reduz a quantidade de antimicrobiano utilizado em relação ao usualmente incorporado diretamente em uma massa, por exemplo (QUINTAVALLA; VICINI, 2002).

Estudos indicam que a atividade antimicrobiana, quando se utiliza a imersão ou *spray* do agente, pode ser rapidamente perdida por inativação do composto por componentes do alimento ou rápida difusão da superfície para o interior do produto, fazendo com que a

quantidade de agente na superfície não seja suficiente para o efeito desejado (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002; QUINTAVALLA; VICINI, 2002). Ao que parece, os antimicrobianos utilizados diretamente no produto vão agir de maneira efetiva no momento em que são adicionados, mas os micro-organismos que não forem destruídos ou células injuriadas que se recuperarem, poderão se desenvolver assim que a concentração do agente, na superfície, estiver abaixo da CIM (QUINTAVALLA; VICINI, 2002).

O efeito do antimicrobiano, já incorporado, em determinado sistema depende do seu espectro de ação; da taxa de crescimento e estado fisiológico dos micro-organismos alvo no alimento; das características físico-químicas da superfície do alimento, como pH e atividade de água; e da cinética de difusão do agente sobre a superfície. Todos estes fatores podem interferir na atividade antimicrobiana do composto ativo (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002).

A cinética de liberação, por sua vez, vai depender do grau de interação entre o agente e o polímero, as bactérias alvo e até o próprio alimento (COOKSEY, 2001). Para que a CIM seja, pelo menos, mantida, isto é, mantida a concentração mínima para o efeito proposto pelo tempo esperado (PÉREZ-PÉREZ et al., 2006), a liberação do agente deve ser constante, caso contrário o efeito ficará restrito aos primeiros dias de armazenamento. A temperatura em que o sistema será transportado, distribuído e armazenado, também afeta a migração dos agentes a partir do polímero. Normalmente, aumentos na temperatura tendem a acelerar a migração do agente, enquanto decréscimos tendem, por sua vez, a reduzir a taxa de migração (HAN, 2000).

Para a produção da embalagem, a natureza química do polímero ou do agente ativo pode dificultar a sua homogeneização, assim como o processo utilizado pode alterar a estrutura do agente antimicrobiano, como no uso de altas temperaturas (HAN; FLOROS, 1997) ou altas temperaturas associadas ao cisalhamento, como no processo de extrusão (COMA, 2008; DEVLIEGHIERE; VERMEIREN; DEBEVERE, 2004). O processo “*cast*” é uma alternativa para compostos antimicrobianos sensíveis ao calor, uma vez que os agentes são fundidos ou solubilizados junto ao polímero na presença de um solvente, sem a necessidade de altas temperaturas para a eficiência do processo (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002).

Uma vez incorporados os antimicrobianos é necessário, de acordo com o fim a que se destina a embalagem, medir as possíveis alterações nas suas propriedades físicas, mecânicas e de barreira, além de efeitos sobre a cor, textura e sabor no alimento em que a embalagem foi utilizada (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002; BATISTA; TANADA-PALMU; GROSSO, 2005; COOKSEY, 2005; GNANASAMBANDAM; HETTIARACHCHY;

COLEMAN, 1997). A espessura dos filmes é um ponto importante e deve ser definida conforme o tipo de alimento onde os filmes serão utilizados e ser controlada de modo a assegurar a uniformidade dos filmes (GENNADIOS; WELLER; TESTIN, 1993 apud GROSSO, 2006).

#### **2.2.4 Considerações quanto ao uso de embalagens antimicrobianas**

Apesar das vantagens, a utilização das embalagens antimicrobianas é limitada pela necessidade de novos materiais poliméricos, regulamentação, métodos apropriados de produção e, ainda, a disponibilidade de antimicrobianos adequados (JIN; ZHANG, 2008). Uma vez incorporados nos polímeros e havendo liberação do agente no produto, este passa a ser considerado, na maioria dos casos, um aditivo alimentar indireto e seu uso só será permitido após aprovação pelo órgão responsável em cada país, o que geralmente ocorre se o aditivo já está autorizado como aditivo direto (COMA, 2008; COOKSEY, 2005). Independente da forma de uso, se direta ou indireta, a concentração máxima permitida pelas normas específicas deverá ser sempre respeitada (SILVEIRA, 2005).

Enquanto Estados Unidos e Japão já vinham utilizando os conceitos de embalagem ativa, a Europa limitava o desenvolvimento desta área por restrições legais, falta de conhecimento quanto à aceitabilidade pelo consumidor e os impactos ambientais da tecnologia, restringindo estudos e, assim, avanços nesta área (VERMEIREN et al., 1999). Mas, nos últimos anos, a Comissão Europeia tem estudado formas de introduzir embalagens ativas no mercado europeu por meio de diretivas que garantam a segurança do consumidor, informando-o por meio de rotulagem adequada e sistema de rastreabilidade (COMA, 2008).

No Brasil, a tecnologia ainda se encontra a nível laboratorial (SOARES et al., 2009). Poucos estudos foram realizados diretamente em sistemas alimentares, sendo necessário avaliar o desempenho dos filmes no alimento a que se destinam (COOKSEY, 2001). A falta de pesquisas em sistemas alimentícios reais para confirmar a eficácia das embalagens acaba por impedir o uso desta tecnologia comercialmente, sendo necessários estudos que estabeleçam o potencial real da tecnologia em cada sistema (DEVLIEGHERE; VERMEIREN; DEBEVERE, 2004; OLIVEIRA, 2002).

Um exemplo de alimento onde poderiam ser testados polímeros incorporados de antimicrobiano é a carne, alimento bastante perecível cuja deterioração ocorre basicamente em nível de superfície (QUINTAVALLA; VICINI, 2002). Em produtos cárneos deve-se considerar que a embalagem antimicrobiana deve, além de retardar a deterioração microbiana, não alterar negativamente a aparência, sabor e odor dos produtos (KERRY; O'GRADY;

HOGAN, 2006), haja vista que determinadas alterações na aparência podem limitar a compra (CARPENTER; CORNFORTH; WHITTIER, 2001) e no sabor e odor podem limitar a recompra (AASLYNG et al., 2006).

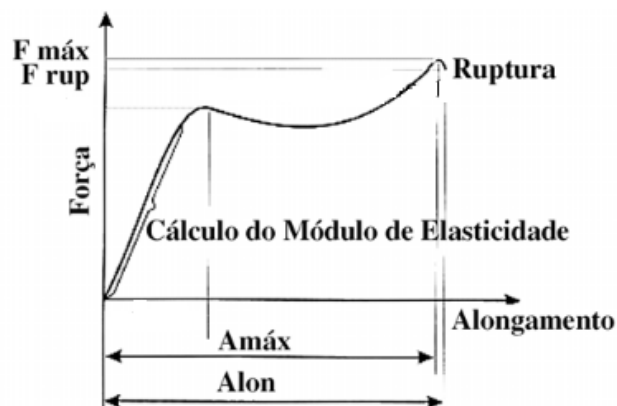
É importante mencionar que, mesmo que as pesquisas cheguem a embalagens antimicrobianas de uso comercial, isso não irá eximir a indústria das boas práticas de fabricação, nem dos cuidados com a distribuição e manutenção dos produtos, uma vez que a embalagem antimicrobiana segue a proposta de ser um complemento aos métodos de conservação já existentes, retardando a degradação do alimento (COOKSEY, 2001; PÉREZ-PÉREZ et al., 2006). Além disso, para o melhor efeito desta embalagem e, assim, um aumento significativo na vida-de-prateleira, será essencial um produto cuja qualidade inicial esteja dentro dos padrões (DEVLIEGHIERE; VERMEIREN; DEBEVERE, 2004).

### **2.2.5 Propriedades mecânicas das embalagens antimicrobianas**

“As propriedades mecânicas dos materiais determinam a resposta destes às influências mecânicas externas e estão associadas à capacidade de desenvolver deformações reversíveis e irreversíveis e de apresentar resistência à fratura (OKAMOTO, 1978 apud RIGO, 2006). De modo geral, uma embalagem deve ser resistente o bastante para suportar, sem romper, o manejo e armazenamento ao qual o alimento será submetido, com flexibilidade variando de acordo com a aplicação a que se destina, se adaptando a possíveis deformações (HENRIQUE, 2002). Assim, dentre as propriedades frequentemente avaliadas das embalagens ativas estão resistência a tração, alongação (RHIM et al., 2000; GÓMEZ-ESTACA et al., 2009), e módulo de elasticidade ou módulo Young (ATARÉS et al., 2010; DU et al., 2009; ROJAS-CRAÛ et al., 2007; TÜRE et al., 2009).

A resistência a tração está relacionada tensão máxima desenvolvida em um material quando submetido à tração, enquanto o módulo Young indica a rigidez, ou seja, quanto mais rígido o material, maior o seu valor (RIGO, 2006). O módulo Young corresponde à porção linear de uma curva tensão-deformação, onde a deformação sofrida pelo filme ainda é reversível. Já a alongação nada mais é que do que a deformação total, relacionada à variação no comprimento, sofrida pelo material durante a análise (ASTM, 2009).

A Figura 2 mostra um exemplo de comportamento de uma amostra durante um teste de tração, onde se vê que inicialmente o material oferece resistência crescente e relacionada à tração, provocando seu alongamento (região linear), mas que a partir de certo ponto a resistência passa a ser menor para a mesma variação na deformação. Quando não resiste mais ao alongamento, o material rompe (SARANTÓPOULOS et al., 2002).



**F<sub>máx</sub>** = força máxima  
**F<sub>rup</sub>** = força da ruptura  
**Alon** = alongamento no ponto de ruptura  
**Amáx** = alongamento na máxima força

**Figura 2.** Curva característica da resistência a tração versus a deformação.  
 Fonte: OLIVEIRA et al. (1996), com modificações.

Na Tabela 1 estão apresentados alguns valores de tensão máxima, módulo Young e alongação de amostras de filmes a base de celofane (GARCIA; PINOTTI; ZARITZKY, 2006), polietileno de baixa e alta densidades (COUTINHO; MELLO; SANTA MARIA, 2003; GARCIA; PINOTTI; ZARITZKY, 2006; GOMES, 2006; THARANATHAN, 2003) e quitosana (GARCIA; PINOTTI; ZARITZKY, 2006; SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2010; SRINIVASA; RAMESH; THARANATHAN, 2007). Embalagens de polietileno são frequentemente utilizadas em carnes (NEVES; ROSSI; MELO, 2005).

**Tabela 1.** Tensão máxima (MPa), módulo Young (MPa) e alongação (%) de alguns filmes.

Tipo de filme	Tensão máxima	Módulo Young	Elongação
Celofane	77 - 95	-	12 - 17
PEBD	6 - 28	102 - 240	54 - 965
PEAD	13 - 45	132 - 1550	50 - 1200
Quitosana	39 - 133	1875 - 2459	2 - 27

PEBD = polietileno de baixa densidade, PEAD = polietileno de alta densidade.

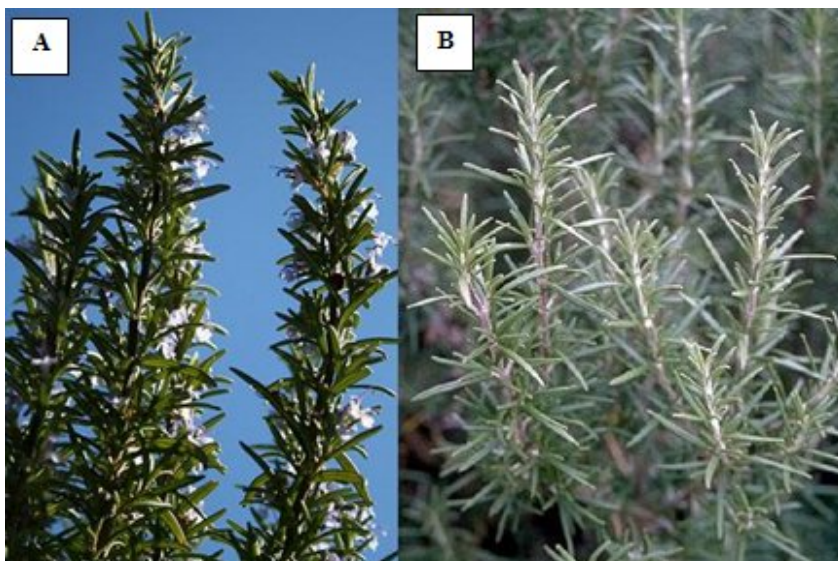
As propriedades mecânicas de embalagens antimicrobianas dependem do polímero utilizado (composição química), da interação entre o polímero e o(s) aditivo(s) utilizado(s), e do processamento ao qual foi submetido o material (GONTARD; GUILBERT, 1996). Sendo assim, o efeito da incorporação de óleos essenciais em filmes sobre as propriedades mecânicas dos mesmos, por exemplo, dependerá das características de cada óleo e sua interação com a matriz polimérica (ATARÉS et al., 2010). A incorporação de 2% (v/v) de óleo essencial de uma planta conhecida como árvore do chá ou melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) em filmes a base de quitosana reduziu significativamente a tensão (de 113 para

54 MPa), o módulo Young (de 2182 para 653 MPa) e a elongação (de 22 para 8%) dos filmes (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2010). Já a incorporação de 0,4% (v/v) de óleo essencial de alho em filmes a base de alginato reduziu significativamente a resistência dos filmes (de 66,12 para 38,67 MPa), mas não alterou a elongação (ROJAS-GRAÜ et al., 2007).

### 2.3 OLÉO ESSENCIAL DE ALECRIM

O alecrim (*Rosmarinus officinalis Lamiaceae*), condimento muito utilizado como flavorizante em carnes (PANDIT; SHELEF, 1994; ZHANG et al., 2009), vem sendo bastante estudado devido a sua atividade antimicrobiana e antioxidante (BOZIN et al., 2007; CELIKTAS et al., 2007; GENENA et al., 2008; MARZOUK et al., 2006; NASCIMENTO et al., 2000; SOUSA; CONCEIÇÃO, 2007; ZHANG et al., 2009).

A espécie *Rosmarinus officinalis L.* é uma planta da família Lamiaceae, (SACCHETTI et al., 2005) originária das áreas ao redor do mar Mediterrâneo e suas muitas ilhas, atualmente cultivado em quase todo território brasileiro (GENENA, 2005). Trata-se de uma planta subarborescente, perene, lenhosa, pouco ramificada, com altura entre 50 cm e 2 metros. As folhas são lineares, coriáceas e aromáticas e as flores ficam dispostas em cachos, são azuladas-claras, pequenas e de aroma forte lembrando cânfora (Figura 3) (LORENZI; MATOS, 2002; VON HERTWIG, 1991). O alecrim pode ser usado fresco, seco ou como óleo essencial, sendo que rende cerca de 1% (v/p) deste último (TEWARI; VIRMANI, 1987).



**Figura 3.** Alecrim com flores (A) e variação na cor das folhas (A e B)

O óleo essencial do alecrim é obtido, geralmente, das folhas da planta (BOZIN et al., 2007; GENENA et al., 2008) e varia de incolor a amarelo pálido, com odor bastante característico (BAUER; GARBE; SURBURG, 1997 apud ATTI-SANTOS et. al., 2005). A composição é variável e os componentes principais são alguns monoterpenos oxigenados e hidrocarbonetos monoterpenos (HUSSAIN, 2009).

Em estudo realizado com óleos da região da Sardenha e Córsega (ilhas do Mar Mediterrâneo) foram encontrados 58 compostos, sendo o  $\alpha$ -pineno o principal constituinte (PINTORE et al., 2002). Em óleos de plantas da região da Turquia foram encontrados 62 compostos, sendo o principal componente o 1-8-cineol (CELIKTAS et al., 2007). Já no Brasil, em um estudo realizado com plantas da região de Campestre da Serra, no Rio Grande do Sul, foram identificados 20 compostos, que corresponderam a cerca de 95% do total, sendo o  $\alpha$ -pineno o majoritário (ATTI-SANTOS et. al., 2005). Ao que parece, a concentração dos compostos na planta e, conseqüentemente, no óleo está relacionada à região e ao clima onde a planta é cultivada (CELIKTAS et al., 2007; MARZOUK et al., 2006).

Os principais componentes do óleo essencial de alecrim que exibem atividade antimicrobiana são:  $\alpha$ -pineno, acetato de bornil, cânfora, 1-8-cineol (BURT, 2004), limoneno (BOZIN et al., 2007), borneol e verbenona, que juntos chegam a corresponder 80% dos componentes presentes no óleo essencial de alecrim (SANTOYO et al., 2005). Mas, é provável que a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais não esteja relacionada a um único composto, ou apenas aos compostos majoritários, mas sim, a uma combinação que acaba por inibir ou retardar o crescimento de alguns micro-organismos. Assim, o efeito parece estar relacionado aos componentes principais e, também, aos componentes minoritários, de modo que um sinergismo entre alguns destes componentes resulte no efeito final (MARZOUK et al., 2006). A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais pode estar associada ao caráter hidrofóbico de seus constituintes, que causariam danos a membrana das bactérias, tornando-a mais permeável (DUSAN et al., 2006).

De maneira geral, bactérias Gram positivas são mais sensíveis a compostos bioativos que Gram negativas, sendo o gênero *Pseudomonas* um dos menos sensíveis (CEYLAN; FUNG, 2004). Para alguns autores, o óleo essencial de alecrim apresenta menor eficácia sobre Gram negativas (CIMANGA et al., 2002; PINTORE et al., 2002; TRAJANO et. al., 2009), possivelmente porque os componentes da membrana externa que envolvem a célula Gram negativa restringem a passagem de compostos de característica hidrofóbica (VAARA, 1992; SMITH-PALMER; STEWART; FYFE, 1998). Contudo, há estudos em que o óleo mostrou boa atividade antimicrobiana contra bactérias Gram positivas e Gram negativas (BOZIN et

al., 2007; CELIKTAS et al., 2007; HUSSAIN, 2009), ou até, maior atividade contra cepas Gram negativas (DORMAN; DEANS, 2000; MARZOUK et al., 2006).

A variação nos resultados *in vitro* da atividade antimicrobiana do óleo essencial pode estar relacionada ao clima e a região onde a planta foi cultivada (CELIK TAS et al., 2007; MARZOUK et al., 2006), ao método de extração do óleo, ao volume do inóculo, a fase de crescimento, meio de cultura utilizado, pH do meio e tempo de incubação e temperatura (RIOS; RECIO; VILLAR, 1988). Além disso, não há, atualmente, um método padronizado para avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos óleos essenciais (BURT, 2004), dificultando a comparação dos resultados.

Além de testes *in vitro* são necessários testes diretamente no alimento, isto porque os resultados obtidos *in vitro* podem não se repetir no alimento em si. Estes testes devem ser feitos em cada produto, pois pode haver variação entre grupos de alimento também, como por exemplo, o resultado na carne de frango pode não ser o mesmo na carne de peixe (MARIUTTI, 2009 apud NETTO, 2009). É importante mencionar que, o óleo essencial de alecrim utilizado em alimentos uma vez que caracterize, também, um condimento, deve obedecer ao padrão microbiológico estabelecido pela RDC 12, que no item 15 que trata de especiarias, temperos, condimentos e molhos preparados e similares, estabelece um limite de  $10^2$  UFC.g<sup>-1</sup> na contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, 10 UFC.g<sup>-1</sup> na contagem de coliformes termotolerantes e ausência de *Salmonella* sp/25 g de produto (BRASIL, 2001).

Avaliar alterações sensoriais causadas pelo uso do óleo essencial no alimento também é necessário, uma vez que o consumidor pode rejeitar o produto em caso de mudanças indesejáveis (BURT, 2004). Uma alternativa para evitar grandes alterações sensoriais no alimento foi proposta com o encapsulamento de óleos essenciais de canela e de alho em  $\beta$ -ciclodextrina, o que permitiu que os compostos fossem liberados em doses baixas e constantes, reduzindo o impacto sobre as características sensoriais (AYALA-ZAVALA et al., 2008). Com o óleo essencial de alecrim a incorporação em embalagens seria uma alternativa, já que nesta tecnologia é possível o uso de menor quantidade do composto para o efeito sobre os micro-organismos (QUINTAVALLA; VICINI, 2002), o que poderia, conseqüentemente, resultar em menores impactos sobre as características sensoriais do alimento.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a eficiência de filmes ativos biodegradáveis incorporados com óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), na conservação de carne de frango resfriada.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- elaborar filmes de acetato celulose incorporados com óleo essencial de alecrim em diferentes concentrações;
- avaliar a atividade antimicrobiana dos filmes *in vitro*;
- analisar as propriedades mecânicas dos filmes;
- avaliar o efeito dos filmes na conservação de carne de frango resfriada.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos laboratórios do Setor de Alimentos da Escola de Agronomia e de Engenharia de Alimentos (EA/UFG) e no Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária (EV/UFG). O óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*), de grau alimentício, foi adquirido da empresa Petite Marie (Itaquaquecetuba - SP), cujos parâmetros de qualidade constam em certificado de análise (ANEXO 1). O acetato de celulose foi adquirido da empresa Rhodia (Freiburg - Alemanha) e os bifes de peito de frango em estabelecimento inspecionado pelo Serviço de Inspeção Municipal em Goiânia - GO.

### 4.1 ELABORAÇÃO DOS FILMES ATIVOS

Os filmes foram elaborados pelo método “*cast*” descrito por Soares (1998) e adaptado por Silveira (2005), com algumas modificações. Flocos de acetato de celulose foram colocados em acetona (10% p/v, acetato de celulose/ acetona) e a mistura deixada em repouso por 12 h. Cinco concentrações de óleo essencial de alecrim, 10, 20, 30, 40 e 50 % (v/p, óleo essencial de alecrim/ acetato de celulose), foram adicionadas às misturas momentos antes da produção dos filmes, seguindo uma completa homogeneização. Alíquotas da mistura foram espalhadas em placa de vidro (previamente sanitizada com álcool 70%) e, após evaporação da acetona, os filmes foram removidos da placa, intercalados entre folhas de papel branco de 75 g.m<sup>-2</sup> para que não houvesse contato entre os filmes, e armazenados em temperatura ambiente para análises posteriores. Como controle, foram produzidos filmes sem óleo essencial.

Foram utilizados filmes com espessuras de  $25 \pm 5 \mu\text{m}$ , obtidas pela média de dez aferições em pontos aleatórios dos filmes, utilizando micrômetro Mitutoyo (0-25 mm).

### 4.2 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DOS FILMES

O procedimento adotado baseou-se no método de disco-difusão em ágar do National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2003), sugerido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2009) para testes de sensibilidade *in vitro* de bactérias aeróbias a agentes antimicrobianos, sendo especialmente eficiente para

avaliar micro-organismos de crescimento rápido. A adaptação foi semelhante ao método utilizado por Imran et al. (2010), Pranoto, Rakshit e Salokhe (2005) e Rojas-Graü et al. (2007). As análises foram feitas com 5 repetições, em duplicata.

Foram utilizadas placas de plástico de 140 mm de diâmetro, previamente preparadas com ágar Mueller-Hinton. Amostras de 25 g de peito de frango resfriado foram homogeneizadas em solução salina peptonada (1%) tamponada. Alíquotas dessa diluição foram semeadas sobre a superfície do ágar com auxílio de *swab* estéril, obtendo-se contagens de mesófilos entre  $10^4$  e  $10^5$  UFC.g<sup>-1</sup> de carne, após o período de incubação. Após inoculação foram dispostos, em cada placa, sobre a superfície do ágar, seis filmes de 1 cm<sup>2</sup> (controle e filmes ativos), previamente expostos a luz ultravioleta (UV) por 2 minutos em ambas as faces. Em seguida, as placas foram incubadas a  $36^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 h e as áreas sem crescimento microbiano (%) foram medidas com auxílio de Microscópio Esterioscópico (Leica M250C, câmara DFC 420) e do aplicativo Leica Application Suíte V3.

#### 4.3 PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES

Previamente a análises, os filmes foram condicionados a temperatura de  $23^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $50\% \pm 10\%$  por 48 h, de acordo com a norma D618-08 da American Society for Testing and Materials (ASTM, 2008). Para tal, permaneceram em estufa, dentro de um dessecador com solução saturada de nitrato de cálcio (SINCLAIR; DHINGRA, 1995 apud MESQUITA; ANDRADE; CORRÊA, 2001).

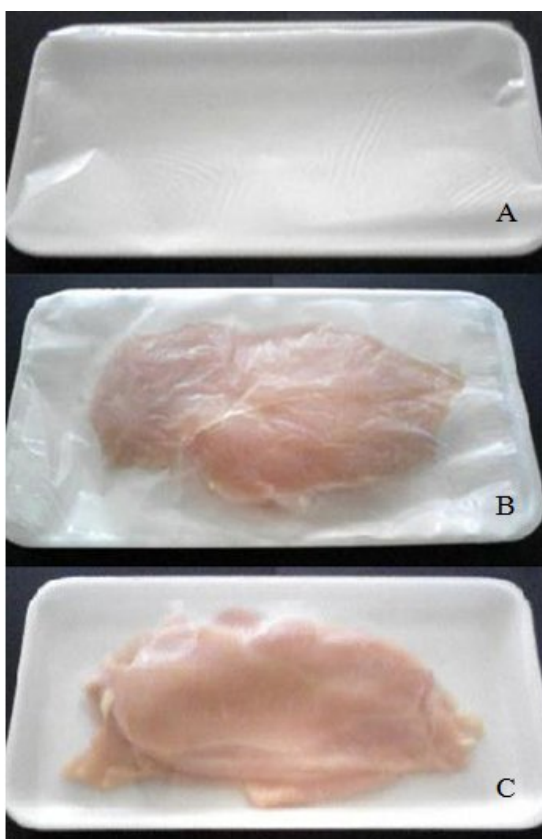
Foram analisadas tensão máxima à tração (MPa), alongação (%) e o módulo Young (MPa) de 5 repetições, em duplicata, de cada tratamento (controle, 10, 20, 30, 40 e 50%, v/p) medindo 175 mm de comprimento total e 10 mm de largura, a uma velocidade fixada em 12,5 mm/min., com auxílio de texturômetro TA-XT plus (Stable Micro Systems Texture Technologies, Godalming, Surrey, Inglaterra), conforme a norma D882-09 (ASTM, 2009).

#### 4.4 EFEITO DOS FILMES NA CONSERVAÇÃO DE CARNE DE FRANGO RESFRIADA

##### 4.4.1 Montagem das bandejas

A carne de peito de frango resfriada foi acondicionada em sacos plásticos de polietileno e transportada em caixa de isopor com gelo ao laboratório, onde permaneceu sob

refrigeração ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ) por, aproximadamente, 1 h. Para montagem do experimento foram utilizadas bandejas de isopor de 28 x 15 cm onde os filmes ativos, preparados conforme metodologia anteriormente descrita e previamente esterilizados em câmara sob luz UV por 2 minutos em ambos os lados, foram intercalados com bife de peito de frango (espessura de 5 a 8 mm) de modo a cobrir ambos os lados das peças. No tratamento controle o filme não foi utilizado (Figura 4). Foram acondicionados cinco bifés por bandeja totalizando, aproximadamente, 200 g de carne. As bandejas foram embaladas com filme de PVC – policloreto de vinila ( $15 \mu\text{m}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $2 \pm 2^\circ\text{C}$ ).



**Figura 4.** Bandeja coberta com filme (A) para intercalar filmes e filés (B) e bandeja controle sem uso do filme (C)

Esta etapa foi realizada duas vezes (duas baterias), na primeira foram montadas e analisadas bandejas com filmes incorporados com 20% (v/p) de óleo essencial de alecrim, filmes sem óleo essencial e, também, bandejas sem filme (controle). Na segunda bateria foram montadas e avaliadas bandejas controle e com filmes incorporados com 50% (v/p) de óleo essencial de alecrim. Na primeira etapa foram avaliados apenas filmes incorporados com 20% (v/p) de óleo essencial porque os melhores resultados *in vitro* foram conseguidos com

esta concentração. Uma segunda etapa com filmes incorporados com 50% de óleo essencial de alecrim foi realizada após os resultados da primeira etapa de análises sugeriram que maiores concentrações de óleo essencial seriam necessárias para resultados favoráveis *in vivo*.

Para cada tratamento foram feitas três repetições.

#### 4.4.2 Análises microbiológicas

Em amostras de carne de cada uma das três repetições dos tratamentos foram feitas contagens de psicrotóxicos ( $\log \text{ UFC.g}^{-1}$ ), coliformes totais ( $\log \text{ UFC.g}^{-1}$ ), coliformes termotolerantes ( $\log \text{ UFC.g}^{-1}$ ) e *Staphylococcus* coagulase positiva ( $\log \text{ UFC.g}^{-1}$ ) e pesquisa de *Salmonella* (presença ou ausência), conforme metodologia sugerida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 1993; BRASIL, 2003b). As análises foram conduzidas nos tempos 0, 3, 6 e 9 dias de estocagem, com exceção da pesquisa de *Salmonella*, realizada no tempo 0 e, por segurança, no tempo 3, sendo estabelecido que esta seria repetida no tempo 9 apenas se os resultados no tempo 0 ou 3 fossem positivos.

#### 4.4.3 Determinação do valor de pH e análise de cor

Durante as duas baterias de análise, amostras de carne de cada tratamento tiveram seu valor de pH (concentração de íons hidrogênio) determinado por método eletrométrico (pHmetro de bancada, marca Logen Scientific modelo LS 300, série 5204) conforme metodologia sugerida pelo MAPA (BRASIL, 1999). A avaliação de cor foi realizada apenas na segunda bateria de análises, em colorímetro ColorQUEST II (Hunterlab, série 6553), com Universal Software Versions 3.6, operando no padrão CIE  $L^*a^*b^*$ , onde  $L^*$  varia de 0 (preto) a 100 (branco), e  $a^*$  e  $b^*$  não possuem limites numéricos específicos (HOUBEN et al., 2000). O sistema operou com iluminante D65 e ângulo de  $10^\circ$  (GAYA, 2006), e as aferições foram feitas diretamente nas peças. A calibração do colorímetro foi realizada previamente às leituras utilizando padrão preto, branco e cinza, sendo o branco utilizado, posteriormente, como padrão ( $L^* = 94,18$ ,  $a^* = -0,93$ ,  $b^* = 0,48$ ). As análises de pH e cor foram feitas nos tempos 0, 3, 6 e 9 dias de estocagem nas três repetições, em duplicata.

### 4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Foi adotado o delineamento inteiramente casualizado, em que o número de repetições e réplicas variou de acordo com a análise (como exposto nos respectivos tópicos).

Os resultados foram submetidos à análise de variância, com teste F. Quando significativo no teste F a 5% de probabilidade, foi aplicado teste Tukey. Para os cálculos foi utilizado o programa *Statistical Analysis System* 6.0 (SAS, 1996).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DOS FILMES

A análise *in vitro* foi realizada como estudo preliminar, uma vez que constitui um método qualitativo simples e rápido, se comparado à análise *in vivo*, (HAMMER, CARSON, RILEY, 1999) cuja resposta pode inviabilizar estudos em sistemas mais detalhados, já que se espera que o resultado obtido *in vivo* se assemelhe ao obtido *in vitro* (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002). Na tabela 2 estão apresentados os resultados obtidos *in vitro*.

**Tabela 2.** Crescimento microbiano sob filmes ativos a base de acetato de celulose incorporados com diferentes concentrações de óleo essencial de alecrim.

Tratamento	Crescimento microbiano (%) <sup>1</sup>
Controle	33,42 ± 16,78 <sup>a</sup>
Filme 10%	25,56 ± 14,33 <sup>a</sup>
Filme 20%	2,53 ± 2,34 <sup>b</sup>
Filme 30%	2,28 ± 1,83 <sup>b</sup>
Filme 40%	3,56 ± 4,63 <sup>b</sup>
Filme 50%	1,75 ± 1,45 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> Valores correspondem à média ± desvio padrão de cinco repetições feitas em duplicata. Médias com letras iguais não apresentam diferença significativa pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

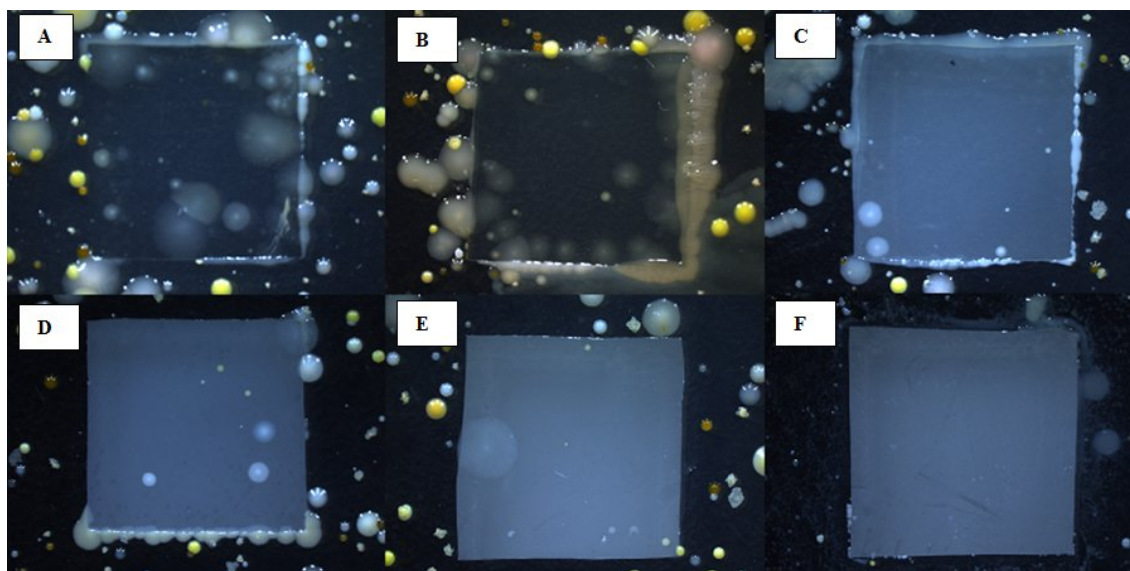
Os resultados sugerem que para uma ação significativa sobre os micro-organismos avaliados é necessária uma incorporação mínima de óleo essencial entre 10 e 20% (v/p). Uma concentração mínima inibitória (CIM) pode ser definida como a menor concentração requerida para que o crescimento bacteriano seja completamente inibido após 48 h de incubação (CANILLAC; MOUREY, 2001) ou, ainda, a concentração de óleo que resulta em 90% de inibição *in vitro* (MOREIRA et al., 2007).

Estudos realizados por Smith-Palmer, Stewart e Fyfe (1998), Hammer, Carson e Riley (1999) e Pintore et al. (2002) apontam a CIM de óleo essencial de alecrim, sem incorporá-lo em filmes, para efeito sobre alguns micro-organismos. Smith-Palmer, Stewart e Fyfe (1998) avaliaram concentrações entre 0,005% e 1% contra cinco micro-organismos, três Gram positivos e dois Gram negativos, e identificaram que três deles, um Gram negativo e dois Gram positivos, também tiveram seu crescimento inibido em concentrações de até 0,5%.

Hammer, Carson e Riley (1999) utilizaram uma concentração máxima de 2% do óleo essencial, e dos dez micro-organismos avaliados, seis foram inibidos por concentrações

iguais ou inferiores à máxima, entre estes, um do gênero *Acinetobacter*, um do gênero *Aeromonas* e uma *Escherichia coli*, todos já encontrados em carnes (KOCA; SARIMEHMETOGLU, 2009; SAHA; CHOPADEV, 2009; SANTO; RODOLPHO; MARIN, 2007). Pintore et al. (2002) identificaram maior sensibilidade das cepas Gram positivas, sendo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 o mais sensível, com CIM de 2,5% de óleo essencial, e a *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 a mais resistente que, se inibida, a CIM certamente está acima da concentração máxima em teste, que foi de 4%. Os pesquisadores mencionam que até mesmo entre plantas da mesma espécie pode haver variações na CIM, já que os compostos ativos variaram de acordo com a região em que a planta foi cultivada.

Não houve formação de halos de inibição ao redor dos filmes (Figura 5), o que sugere a não difusão dos agentes antimicrobianos pelo ágar, como observado por Imran et al. (2010), em estudo com filmes a base de derivados de celulose incorporados com nisina. Por estes resultados não se pode afirmar que não houve atividade antimicrobiana, já que esta pode ocorrer sem migração dos compostos ativos, resultando em uma inibição dos microorganismos em contato direto com a superfície do filme, como em estudo realizado por Brody, Strupinsky e Kline (2001 apud Pranoto, Rakshit e Salokhe, 2005) com filmes de quitosana. Segundo Cagri, Ustunol e Ryser (2001), uma interação entre grupamentos do polímero e os compostos ativos do agente incorporado pode reduzir ou até impedir a migração de compostos ativos para o sistema.



**Figura 5.** Crescimento de micro-organismos mesófilos sob os filmes após 48 h de incubação a  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , sendo A = controle, B = 10%, C = 20%, D = 30%, E = 40%, F = 50% (v/p) de óleo essencial de alecrim.

Embora sem formação de halos de inibição, o crescimento microbiano sob os filmes foi significativamente menor ( $p \leq 0,05$ ) naqueles incorporados com 20, 30, 40 e 50% de óleo (v/p), sugerindo que houve algum tipo de inibição sob os mesmos. Melo et al. (2006) indicam que as zonas de inibição devem ser medidas a partir do centro do filme, ou seja, consideram a área sem crescimento sob os filmes como resultado de alguma inibição.

Os resultados *in vitro* também apontam que o efeito não se mostrou proporcional à concentração do óleo, já que entre os filmes incorporados de 20, 30, 40 e 50% (v/p) não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as respostas. Sugere-se que o efeito máximo pode ter sido alcançado já nos filmes incorporados com 20% (v/p) de óleo ou, então, que concentrações acima de 50% sejam requeridas para um aumento significativo na resposta. Estudos realizados por Bozin et al. (2007) e Pranoto, Rakshit e Salokhe (2005) corroboram com estas hipóteses.

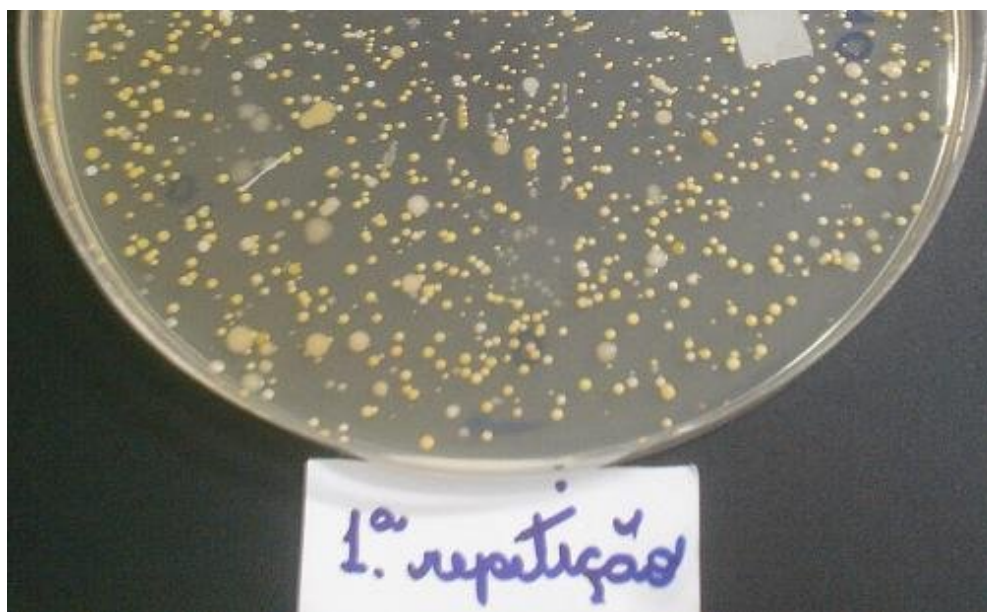
Bozin et al. (2007) analisaram o óleo essencial de alecrim em concentrações de 20 e 50%. Os pesquisadores testaram os efeitos de cada uma das duas diluições sobre 13 cepas bacterianas e os dados obtidos mostraram que as inibições causadas pelas duas concentrações, se avaliadas globalmente, parecem não diferir, pois embora os autores não tenham submetido os dados à análise estatística, as médias das zonas de inibição das duas concentrações parecem semelhantes (20,5 mm com 20% e 24,4 com 50%).

Pranoto, Rakshit e Salokhe (2005), ao avaliarem filmes a base de quitosana incorporados com quatro diferentes concentrações de sorbato de potássio, identificaram aumento na atividade inibitória quando a concentração de sorbato de potássio passou de 50 mg/g para 100 mg/g, mas a partir desta não houve melhora significativa na resposta, mesmo quando incorporados com 150 mg/g ou 200 mg/g. Segundo os autores, isto pode ter ocorrido porque o polímero possui uma capacidade máxima de transporte de grupos funcionais para o sistema.

Os dados publicados por Bozin et al. (2007) também sugerem que alguns microorganismos, por características próprias, sejam resistentes aos agentes ativos do óleo, ou requeiram maiores concentrações para sua inibição, pois os pesquisadores identificaram que duas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853 e IPH-MR) foram resistente às duas concentrações (20 e 50%). Pode ter ocorrido algo semelhante no sistema teste, o que explicaria a inibição parcial do crescimento sob os filmes, mesmo sob aqueles incorporados com 50% do óleo essencial. Alguns trabalhos onde a inibição do óleo essencial foi avaliada em concentração absoluta (100%) também confirmam esta hipótese, como o estudo realizado por Gachkar et al. (2007), que apontou atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim

variando de boa a moderada, sendo que a *Escherichia coli* ATCC 25922 e a *Listeria monocytogenes* PTCC 1298 se mostraram mais sensíveis ao óleo essencial que a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Entretanto, Trajano et al. (2009) encontraram um baixo índice de inibição, já que entre as dez cepas em teste, apenas uma foi sensível ao óleo essencial de alecrim em concentração absoluta.

Neste experimento, as placas foram avaliadas após 24 h de incubação, mas, o crescimento não se mostrou aparente, sendo necessárias 48 h para um crescimento visível por toda a placa (Figura 6), conforme sugere Appendini e Hotchkiss (2002). A atividade antimicrobiana dos filmes foi avaliada frente à microbiota natural de amostras de peito de frango resfriado, enquanto grande parte das publicações trata de estudos com cepas isoladas, isto é, uma única espécie (subespécie ou sorovar) de micro-organismos em cada placa teste. Pela grande variedade de cepas que podem ser encontradas na carne de frango (JAY, 2005; MEAD, 2004, PEPE et al., 2006; SILVA; DUARTE, 2002), o uso da diluição  $10^{-1}$  possibilitou testar uma mesma amostra de filme contra vários micro-organismos ao mesmo tempo, semelhante à situação encontrada no alimento, como foi feito por Ponce et al. (2008) ao analisarem a atividade antimicrobiana de filmes incorporados de oleoresina de diversas plantas, entre elas o alecrim, sobre a microbiota nativa de abóbora (*Cucurbita moschata* Duch).

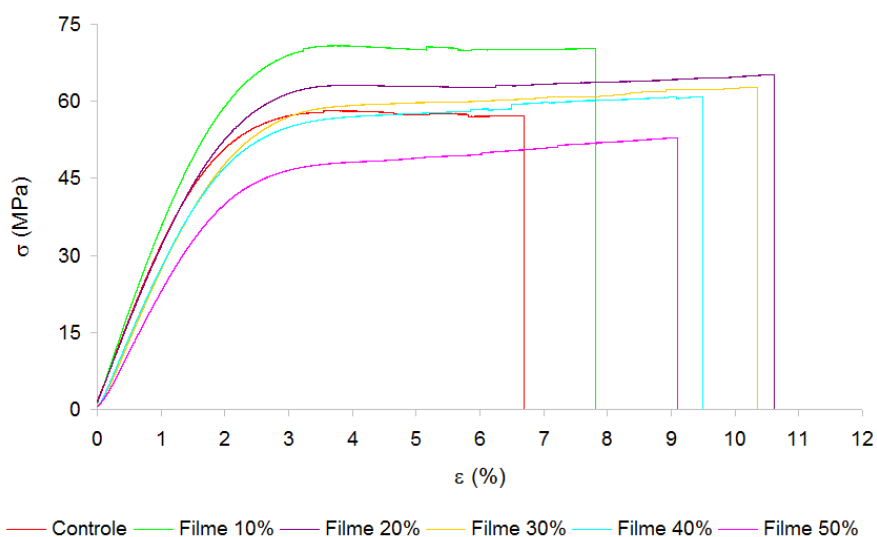


**Figura 6.** Crescimento microbiano em uma das placas com ágar Mueller-Hinton inoculadas com micro-organismos mesófilos, sobre a qual foram alocadas as amostras de diferentes filmes. Trata-se do momento da leitura, após 48 h de incubação a  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Seydim e Sarikus (2006) incorporaram diferentes concentrações de óleo essencial de alecrim em filmes comestíveis à base de proteína de soro de leite e obtiveram resultados opostos aos encontrados neste experimento, já que os filmes não exibiram qualquer atividade antimicrobiana sob os micro-organismos. Possivelmente, tais resultados devem-se a vários fatores, como a utilização de filmes comestíveis e não a base de celulose, onde as interações químicas entre os compostos ativos e o polímero podem ter reduzido o efeito inibitório (PRANOTO; RAKSHIT; SALOKHE, 2005); o método utilizado para a produção dos filmes, já que os pesquisadores fizeram uso de calor, o que pode ter inativado alguns dos agentes ativos (COMA, 2008); as baixas concentrações de óleo utilizadas; ao procedimento escolhido para a análise, já que o grau de inibição *in vitro* depende das particularidades do método utilizado (HAMMER; CARSON; RILEY, 1999) e à contagem de micro-organismos, uma vez que os pesquisadores utilizaram uma contagem inicial de  $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>, o que pode ter excedido a capacidade inibitória dos compostos no filme (PONCE et al., 2008).

## 5.2 PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS FILMES

A Figura 7 mostra o comportamento dos parâmetros tensão máxima e alongação de todos os tratamentos, durante as análises. Na Tabela 3 estão apresentados os resultados de tensão máxima, alongação e módulo Young dos filmes a base de acetato de celulose.



**Figura 7.** Curvas de tensão/alongação de filmes ativos a base de acetato de celulose incorporados com 0, 10, 20, 30, 40 ou 50% (v/p) de óleo essencial de alecrim, obtidas a partir de testes de tração.

**Tabela 3.** Resistência a tração (MPa), módulo Young (MPa) e alongação (%) dos filmes ativos a base de celulose incorporados com diferentes concentrações de óleo essencial de alecrim e controle.

Tratamento	Tensão máxima <sup>1</sup>	Módulo Young <sup>1</sup>	Elongação <sup>1</sup>
Controle	57,5 ± 6,6 <sup>dc</sup>	33,1 ± 3,9 <sup>ab</sup>	6,70 ± 3,0 <sup>a</sup>
Filme 10%	70,9 ± 4,0 <sup>a</sup>	36,3 ± 2,2 <sup>a</sup>	7,81 ± 2,9 <sup>a</sup>
Filme 20%	65,6 ± 3,1 <sup>ab</sup>	32,6 ± 2,4 <sup>b</sup>	10,62 ± 3,8 <sup>a</sup>
Filme 30%	63,4 ± 8,4 <sup>bc</sup>	27,5 ± 2,8 <sup>c</sup>	10,35 ± 3,3 <sup>a</sup>
Filme 40%	60,8 ± 4,0 <sup>bc</sup>	28,0 ± 2,1 <sup>c</sup>	9,49 ± 3,1 <sup>a</sup>
Filme 50%	52,3 ± 3,4 <sup>d</sup>	23,2 ± 1,7 <sup>d</sup>	9,09 ± 3,4 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Valores correspondem à média de cinco repetições, em duplicata. Médias com letras iguais não apresentam diferenças significativas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A incorporação de óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em filmes de acetato de celulose promoveu variações significativas ( $p \leq 0,05$ ) na tensão máxima, isto é, na resistência máxima oferecida pelos filmes quando submetidos a tração. O módulo Young, que mostra a rigidez dos filmes, também variou significativamente ( $p \leq 0,05$ ) com a incorporação de óleo essencial, enquanto a alongação, que mostra a capacidade do filme de esticar antes de romper, variou entre os resultados, mas, a variação não se mostrou significativa ( $p > 0,05$ ) pela análise estatística aplicada.

Inicialmente, a incorporação de 10% (v/p, óleo essencial de alecrim/ acetato de celulose) aumentou consideravelmente a tensão máxima do filme, de aproximadamente 57,5 para 70,9 MPa. Porém, à medida que a concentração aumentou, observou-se a redução gradual da tensão, que atingiu valores em torno de 52,3 MPa com 50% (v/p) do óleo essencial de alecrim incorporado. O aumento na tensão máxima suportada pelos filmes pode estar relacionado a uma possível interação entre as cadeias do polímero e os componentes do óleo essencial, formando uma estrutura mais resistente à tração, e resultados semelhantes encontrados por Kechichian et al. (2010), Moraes et al. (2007) e Ojagh et al. (2010) corroboram com esta hipótese.

Kechichian et al. (2010) incorporaram até 0,2% de óleo essencial de laranja em filmes a base de fécula de mandioca e identificaram um aumento na tensão máxima dos filmes. Moraes et al. (2007) ao incorporarem 7% de ácido sórbico em filmes a base de celulose identificaram que os mesmos apresentaram maior resistência que o controle. Ojagh et al. (2010) incorporaram concentrações entre 0,4% e 2% de óleo essencial de canela em filmes a base de quitosana e também obtiveram amostras mais resistentes. De acordo com estes últimos, houve uma forte interação entre o polímero e os componentes do óleo essencial, resultando em ligações cruzadas que reduziram a mobilidade molecular na matriz. No estudo realizado por Ojagh et al. (2010), a incorporação de óleo essencial de canela aumentou a

resistência a tração e reduziu a alongação, o que aconteceu, provavelmente, pela formação de estrutura compacta nestes filmes, que reduziu sua flexibilidade.

A redução gradativa na resistência dos filmes a partir da incorporação de 20% de óleo essencial (v/p), por sua vez, pode estar relacionada à substituição exagerada dos polímeros pelos componentes do óleo, e na medida em que se aumentou a concentração de óleo essencial esta substituição foi cada vez mais acentuada, resultando em uma matriz menos resistente. Batista, Tanada-Palmu e Grosso (2005), ao incorporarem ácido láurico em filmes a base de pectina identificaram ligeiro aumento na tensão dos filmes quando a concentração de ácido láurico passou de 6% para 12%, mas, quando a concentração passou a 18% houve uma redução na resistência dos filmes. Em outro estudo, Arvanitoyannis, Psomiadou e Nakayama (1996) verificaram que a incorporação de uma grande quantidade de plastificante resultou em uma interação excessiva de compostos com a matriz dos filmes, enfraquecendo-a e resultando em uma baixa resistência a tração. Yang e Paulson (2000) também apontam que a partir de certa substituição de polímeros por lipídeos na matriz a tensão suportada pelo filme tende a reduzir.

Os filmes a base de acetato de celulose incorporados com óleo essencial de alecrim de tensão máxima entre 70,4 MPa (10%, p/p) e 52,3 MPa (50%, p/p), mostraram resistência semelhante a filmes a base de quitosana incorporados com de óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*). A incorporação de 0,5% (p/p) de óleo essencial de melaleuca resultou em filmes com resistência máxima de 75 MPa, que reduziu para 72 MPa com a incorporação de 1% (p/p) de óleo essencial e para 54 MPa com a incorporação de 2% (p/p) do mesmo óleo (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ et al., 2010). Os valores mostram, também, que filmes a base de celulose incorporados com óleo essencial de alecrim são mais resistentes que filmes a base de polietileno, cujos valores de tensão máxima estão entre 6 e 45 MPa (COUTINHO; MELLO; SANTA MARIA, 2003; GARCIA; PINOTTI; ZARITZKY, 2006; GOMES, 2006; THARANATHAN, 2003) e filmes a base de proteínas de soja ou de glúten, cujos valores estão entre 1,79 e 8,4 MPa (RHIM, 2000; TÜRE et al., 2009).

O filme mais resistente a tração foi, também, o que apresentou maior rigidez. O comportamento dos filmes quanto ao módulo Young foi semelhante à tensão máxima, isto é, aumento inicial da rigidez, com posterior redução à medida que se aumentou a concentração de óleo essencial, e comportamento semelhante foi observado em estudo realizado por Ture et al., (2009) em filmes a base de metilcelulose incorporados com diferentes concentrações de natamicina e extrato de alecrim. Já redução de rigidez a partir do acréscimo de 20% (v/p) de óleo essencial de alecrim, em relação aos filmes incorporados da menor concentração de óleo

essencial (10% p/v), possivelmente deveu-se a sua influência na interação das cadeias da matriz polimérica. Lima et al. (2007) citaram que a incorporação de 30% de sorbitol em filmes a base de alginato de sódio reduziu as interações polímero-polímero, resultando em uma diminuição significativa no módulo de elasticidade. No estudo conduzido por estes pesquisadores, rigidez e resistência apresentaram comportamentos semelhantes, e quando houve redução em um destes parâmetros, o mesmo foi observado no outro.

Os valores de módulo Young, que variaram de 36,3 MPa para filmes incorporados com 10% de óleo essencial de alecrim (v/p) a 23,2 MPa para filmes incorporados com 50%, foram menores que os encontrados em filmes a base de metilcelulose incorporados com 1,5% de extrato de alecrim (v/p) e de 1 a 2% de natamicina (p/p), próximos ao encontrado em filmes a base de proteína de soja e glicerol (60/40 e 50/50 p/p, proteína de soja/glicerol) e maiores que o observado em filmes a base de amido de quinoa (*Chenopodium quinoa*) incorporados com 21,2% (p/p) de glicerol. Os filmes a base de metilcelulose mostraram valores entre 272,46 e 462,22 MPa (TÜRE et al., 2009), filmes a base de proteína de soja e glicerol valores entre 12,5 e 36 MPa (GUERRERO et al., 2010), e os filmes a base de amido de quinoa valores entre 3,53 a 5,65 MPa (ARAUJO-FARRO et al., 2010). Segundo Gomes (2006), quanto maior o módulo Young, maior a tensão necessária para produzir uma deformação, o que caracteriza filmes mais rígidos.

Embora tenha havido variações significativas na resistência a tração e na rigidez dos filmes incorporados com óleo essencial de alecrim, não foram observadas variações estatisticamente diferentes no percentual de alongação. De acordo com Pranoto, Rakshit, Salokhe (2005) variações na resistência dos filmes durante os ensaios de tração nem sempre são acompanhadas de variações na alongação. Os pesquisadores incorporaram óleo essencial de alho em concentrações variando entre 100 e 400 µl/g em filmes a base de quitosana, e identificaram que a resistência a tração caiu à medida que maiores concentrações de óleo eram incorporados, mas, o percentual de alongação foi o mesmo para todos os filmes.

Estudo realizado por Santiago-Silva et al., (2009), também com filmes a base de acetato de celulose, mostrou que a deformação não variou significativamente com a incorporação de 25 ou 50% (p/p) de pediocina. Os pesquisadores não calcularam a alongação (%) dos filmes, mas é possível uma comparação de dados a partir da deformação (mm). Segundo eles, filmes a base de acetato de celulose, sem incorporação de qualquer composto, apresentaram 1,70 mm de deformação, enquanto no aqui apresentado os valores foram de 8,38 mm (o que representou 6,7% de alongação). Essa diferença pode estar relacionada, como citam Appendini e Hotchkiss (2002), à espessura dos filmes, uma vez que os Santiago-Silva et

al., (2009) analisaram amostras com espessura média de 82  $\mu\text{m}$ , frente aos  $25 \pm 5 \mu\text{m}$  das amostras analisadas neste experimento.

Supõe-se que as interações entre o polímero e os componentes do óleo essencial de alecrim foram suficientes para tornar alguns filmes mais resistentes e mais rígidos, mas não facilitaram nem dificultaram o movimento das cadeias, de modo que não alteraram a elongação. Em estudo realizado com filmes a base de amido incorporados com glicerol, os pesquisadores sugeriram a formação de uma matriz menos densa que, quando sob tensão, se movimentou com mais facilidade (MALI et al., 2005). Atarés et al. (2010) encontraram que, a medida que aumentavam a concentração de óleo essencial de canela em filmes a base de proteína de soja a tensão era reduzida, mas, a elongação não sofria variações, possivelmente porque os lipídeos não são capazes de formar uma matriz coesa e contínua, de modo que podem até haver interações, mas o tipo de interação que ocorre não favorece a elongação.

Os valores de elongação encontrados neste experimento (6,70 a 10,62%) são semelhantes aos apontados por Gemili, Yemenicioglu e Altinkaya (2009) para filmes a base de acetato de celulose incorporados de com água e lisozima. Os pesquisadores apontam que a elongação variou entre  $1,4 \pm 0,55\%$  para filmes 5/13,5/1,5 (p/p, acetato de celulose/água/lisozima) e  $12,0 \pm 1,58\%$  para filmes 15/5/0. Os valores também estão próximos aos apontados por Garcia, Pinotti e Zaritzky (2006) para filmes a base de celofane ( $14,4 \pm 2,4\%$ ), e são inferiores ao que é encontrado para filmes de polietileno de baixa densidade, cuja elongação pode variar entre 54 e 965% (COUTINHO; MELLO; SANTA MARIA, 2003; GARCIA; PINOTTI; ZARITZKY, 2006; GOMES, 2006; THARANATHAN, 2003).

### 5.3 EFEITO DOS FILMES NA CONSERVAÇÃO DE CARNE DE FRANGO RESFRIADA

Com base no exposto por Appendini e Hotchkiss (2002) espera-se um resultado *in vivo* semelhante ao encontrado *in vitro*, sendo assim, os resultados das análises *in vitro* mostraram ser viável testar filmes a base de acetato de celulose incorporados com óleo essencial de alecrim em concentrações de 20 a 50% (v/p), em carnes. Para economia de matéria-prima e conseqüente redução de custos, a concentração de 20% (v/p) foi, obviamente, a primeira escolha.

Os resultados das contagens de psicrotróficos, coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva e a pesquisa de *Salmonella* em amostras

de peitos de frango embaladas sem filmes (controle), com filmes sem incorporação de óleo essencial de alecrim (filme 0%) ou com filmes incorporados com 20% (v/p) de óleo essencial (filme 20%) estão apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Atividade microbiana (log UFC.g<sup>-1</sup>) na carne de frango submetida aos tratamentos (controle, filme 0% e filme 20%), nos tempos 0, 3, 6 e 9 dias de estocagem, a 2 ± 2°C.

Microrganismo	Tratamento	Tempo <sup>1</sup>			
		0	3	6	9
Psicrotróficos	Controle	5,45 <sup>Aa</sup>	6,61 <sup>Ab</sup>	7,57 <sup>Ac</sup>	8,99 <sup>Ad</sup>
	Filme 0%	5,45 <sup>Aa</sup>	6,59 <sup>Ab</sup>	7,52 <sup>Ac</sup>	8,74 <sup>Ad</sup>
	Filme 20%	5,45 <sup>Aa</sup>	6,77 <sup>Ab</sup>	7,71 <sup>Ac</sup>	8,59 <sup>Ad</sup>
Coliformes Totais	Controle	4,40 <sup>Aa</sup>	3,99 <sup>Aa</sup>	3,58 <sup>Aa</sup>	2,32 <sup>Aa</sup>
	Filme 0%	4,40 <sup>Aa</sup>	4,39 <sup>Aa</sup>	4,80 <sup>Aa</sup>	5,18 <sup>Aa</sup>
	Filme 20%	4,40 <sup>Aa</sup>	4,42 <sup>Aa</sup>	3,36 <sup>Aa</sup>	2,56 <sup>Aa</sup>
Coliformes Termotolerantes	Controle	< 1	< 1	< 1	< 1
	Filme 0%	< 1	< 1	< 1	< 1
	Filme 20%	< 1	< 1	< 1	< 1
<i>Salmonella</i>	Controle	ausente	ausente	-	-
	Filme 0%	ausente	ausente	-	-
	Filme 20%	ausente	ausente	-	-
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	Controle	< 1	< 1	< 1	< 1
	Filme 0%	< 1	< 1	< 1	< 1
	Filme 20%	< 1	< 1	< 1	< 1

<sup>1</sup> Os valores correspondem às médias de três repetições. Letras maiúsculas expressam tratamento e letras minúsculas expressam tempo. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A contagem de psicrotróficos aumentou significativamente ( $p \leq 0,05$ ) no decorrer do período de armazenamento, mas não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos em nenhum dos tempos, mostrando que, neste sistema alimentício, uma concentração de 20% de óleo essencial de alecrim em filmes a base de acetato de celulose não foi eficiente para reduzir ou evitar o crescimento destes micro-organismos. Sendo a contagem de psicrotróficos um indicador da vida-de-prateleira de carnes resfriadas (DICKENS; INGRAM; HINTON JR, 2004; ECONOMOU et al., 2009), o filme ativo a base de acetato de celulose incorporado com 20% (v/p) de óleo essencial de alecrim não contribuiu significativamente para estender a vida-de-prateleira das amostras.

A contagem de coliformes totais não variou significativamente entre os tempos ( $p \geq 0,05$ ), provavelmente pela temperatura utilizada ter exercido, por si só, um controle sobre o crescimento destes micro-organismos (MAROSO, 2008). Também não houve interferência significativa dos tratamentos sobre o crescimento destes coliformes. A ausência de

*Salmonella* e contagens de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva abaixo de 1 log UFC.g<sup>-1</sup> de peito de frango mostrou a boa qualidade da matéria-prima utilizada nos testes, em relação a estes micro-organismos.

O valor de pH das amostras, que inicialmente foi de 6,08, aumentou com o tempo de armazenamento, mas, este aumento só foi significativo ( $p \leq 0,05$ ) no tempo 9, quando o valor de pH médio das amostras controle, embaladas com filme 0% e embaladas com filme 20% foram, respectivamente, 6,66, 6,30 e 6,27. Houve, também, no 9º dia, diferença significativa entre as amostras controle ( $p \leq 0,05$ ) e as amostras embaladas com filmes 0% e 20%, sendo que entre estas últimas não houve variação significativa ( $p > 0,05$ ).

Em alimentos armazenados sob aerobiose e ricos em proteínas ou aminoácidos livres, como a carne de frango, é comum o aumento no valor de pH à medida que aumenta a contagem de micro-organismos deteriorantes (BALAMATSIA et al., 2006; KRIZEK et al., 2004; NTZIMANI et al., 2008), cuja atividade proteolítica resulta em compostos de caráter básico (ANTUNEZ et al., 2006; VINCI; ANTONELLI, 2002), explicando este aumento significativo no valor de pH. Esta mesma relação entre valor de pH e crescimento de deteriorantes também pode explicar a variação entre controle e demais tratamentos no último tempo, pois, apesar da não diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as contagens de psicrotóxicos das amostras controle em relação as demais, esta foi, no tempo 9, numericamente maior ( $1,6 \times 10^9$  UFC.g<sup>-1</sup> no controle contra  $5,5 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup> naquelas com filme 0% e  $3,9 \times 10^8$  UFC.g<sup>-1</sup> naquelas com filme 20%).

O fato do efeito *in vitro* obtido com filmes incorporados de 20% de óleo essencial de alecrim não ter se repetido no sistema *in vivo* pode ser explicado pela influência de tempo de contato, temperatura, pH, sistema alimentício e concentração de óleo essencial. Quanto ao tempo de contato, é possível que para uma resposta positiva com o óleo essencial de alecrim seja necessário um tempo maior de armazenamento, como descrito em estudo de Moreira et al. (2007). A necessidade de maior tempo de exposição para uma resposta significativa poderia inviabilizar o uso de filmes a base de acetato de celulose incorporados com 20% do óleo essencial em peitos de frangos resfriados e embalados sob aerobiose, já que a vida-de-prateleira destes produtos é, naturalmente, curta, exigindo tratamentos cuja resposta seja rápida.

A temperatura de armazenamento pode interferir na migração dos agentes do filme para o sistema, como apontado em estudo realizado por Moreira et al. (2007) com óleos essenciais de cravo (*Syzygium aromaticum*) e uma planta conhecida como árvore de chá ou melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) em espinafre e carne cozida, em que a atividade inibitória

dos óleos essenciais foi maior sob temperatura entre 20 e 22° C que sob refrigeração (8-10° C). No caso do experimento, os resultados *in vitro* sugerem a não migração dos compostos do filme, sendo assim, a temperatura não deve, no sistema alimentício em análise, ter interferido negativamente. Além disso, para Smith-Parker, Stewart e Fyfe (1998), nem sempre temperaturas de refrigeração reduzem a atividade inibitória dos óleos essenciais, sendo que em alguns casos a influência pode ser até positiva, e isso depende do óleo essencial.

Por outro lado, baixas temperaturas de armazenamento poderiam interferir no efeito antimicrobiano dos filmes se, em função deste parâmetro, ocorresse alguma alteração significativa na estrutura dos filmes que impedisse a ação dos agentes ativos sobre os microorganismos. Em temperaturas muito abaixo da temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) nota-se que as cadeias poliméricas são imobilizadas, o que reduz a mobilidade das moléculas (MENDIETA-TABOADA; CARVALHO; SOBRAL, 2008), uma vez que o polímero está se comportando como um material vítreo e, por isso, rígido (CASSU; FELISBERTI, 2005).

Bonzanini e Gonçalves (2006) encontraram que a  $T_g$  para filmes de acetato de celulose é 145°C, que aumentou em 20°C com a incorporação de argila montmorilonita sódica nos filmes. Por sua vez, Cercená, Andreani e Soldi (2009) encontraram um valor de  $T_g$  de 194°C, que com a incorporação de diferentes fármacos nos filmes, reduziu significativamente para todos os tratamentos, sendo que quanto maior a concentração de fármaco nos filmes, menor a  $T_g$ , sendo o valor mínimo encontrado de 100°C quando da incorporação de 30% de ácido salicílico. Diante de valores tão altos de  $T_g$ , pode-se sugerir que, seja sob temperaturas de 36°C  $\pm$  1°C (ensaio *in vitro*), seja sob temperaturas de 2  $\pm$  2°C (ensaio *in vivo*) todos os filmes já estariam em seu estado vítreo. A análise *in vitro* dos filmes incorporados de óleo essencial de alecrim sugere que não houve migração dos agentes ativos pelo ágar, assim, se já sob temperaturas de 36°C  $\pm$  1°C não houve movimentação dos agentes, uma redução na temperatura não teria maiores influências sobre a ação dos filmes.

O pH do sistema também pode afetar a atividade dos agentes ativos. Segundo Han (2000), o pH pode alterar o grau de ionização (dissociação/ associação) de alguns compostos ativos e, conseqüentemente, sua atividade, o que, nem sempre, é algo negativo. Gutierrez, Barry-Ryan e Bourke (2008) em estudo com óleos essenciais de orégano e tomilho, identificaram que um valor de pH 5 (ácido) favoreceu a atividade destes óleos essenciais. Segundo os autores, neste caso, o baixo valor de pH aumentou a hidrofobicidade dos óleos, facilitando sua passagem pela membrana das células bacterianas. É válido considerar que no peito de frango resfriado o valor de pH variou de 5,8 a 6,7 (entre os tempos 0, 3, 6 e 9), saindo da faixa ideal apontada pelos autores. Sendo assim, é possível cogitar que, se um baixo valor

de pH realmente influenciar positivamente a atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim, esta influência não seria vista neste sistema em teste.

Um último ponto, e talvez o mais importante a ser considerado, é o sistema alimentício em si e, intimamente relacionado a ele, a concentração de óleo essencial nos filmes. Devlieghere, Vermeiren e Vermeiren (2004) citam que podem ocorrer interações entre os compostos antimicrobianos e componentes do alimento, como proteínas e gordura, e que estas interações, por sua vez, podem influenciar na eficácia destes compostos. Além de possíveis interações entre compostos e ingredientes, para Moreira et al. (2007), no sistema *in vitro* há o contato direto entre agentes e micro-organismos, sendo que o mesmo pode não ocorrer no sistema *in vivo*. Segundo Burt (2004), é possível que as moléculas de gordura e/ou proteína ajam como barreira física aos agentes antimicrobianos, protegendo os micro-organismos da ação dos mesmos. Singh et al. (2003), em estudo realizado com *hotdogs*, mostraram uma redução significativa na atividade antimicrobiana de óleos essenciais de tomilho e cravo quando o teor de gordura passou de zero para 9% nas formulações.

A incorporação de 20% de óleo essencial de alecrim nos filmes foi insuficiente para um efeito *in vivo* e alguns estudos apontam que podem ser necessárias concentrações maiores de óleo essencial em sistemas alimentícios, devida sua complexidade, para que se consigam resultados similares ao observado *in vitro*. Além dos pontos já levantados em relação às particularidades do sistema alimentício, Gill et al. (2002) sugerem que uma maior disponibilidade de nutrientes no sistema alimentício em relação aos meios de cultura permite que células bacterianas danificadas se recuperem mais rápido, e conseqüentemente, o crescimento seria mais efetivo.

Vermeiren, Devlieghere e Debevere (2002) ao avaliarem a atividade antimicrobiana de filmes incorporados com 1% de triclosan *in vitro* e *in vivo* (em peitos de frango embalados a vácuo e armazenados a 7°C) identificaram que o filme foi efetivo no controle de micro-organismos psicrotróficos *in vitro*, mas *in vivo* o efeito não foi significativo. O mesmo ocorreu com Suppakul et al. (2003), que avaliaram o efeito de filmes de polietileno incorporados com 1% de triclosan e identificaram que esta concentração foi suficiente para o controle de *Listeria in vitro*, mas não foi efetiva em impedir seu crescimento em peito de frango estocado a 7°C.

Pandit e Shelef (1994) avaliaram a atividade antimicrobiana de óleo essencial de alecrim encapsulado tanto *in vitro* quanto *in vivo* (linguiça preparada com fígado de suíno), e citam que *in vivo* foi necessária uma concentração 10 vezes maior de óleo essencial que *in vitro* para o mesmo resultado. Uhart, Maks e Ravishankar (2006) ao avaliarem os efeitos do

alho, gengibre e açafrão contra *Salmonella typhimurium* DT104 identificaram que o contato direto dos condimentos com as bactérias era capaz de inativá-las, mas quando os condimentos eram aplicados em carne moída contaminada com a bactéria a atividade antimicrobiana dos mesmos era significativamente reduzida.

Diante da hipótese de que uma maior concentração poderia ser necessária no sistema *in vivo* uma nova bateria de análises foi conduzida, desta vez com filmes incorporados com 50% (v/p) de óleo essencial de alecrim (concentração máxima avaliada *in vitro*). Nesta etapa não foram montadas bandejas com filme sem óleo essencial (0% de alecrim), já que a primeira bateria de análises mostrou que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre o controle sem filmes e as amostras onde filmes sem alecrim foram utilizados. Além disso, as análises foram conduzidas apenas até o tempo 6 de estocagem porque, durante a primeira bateria de análises micro-organismos psicrotróficos atingiram uma contagem entre  $10^7$  e  $10^8$  UFC.g<sup>-1</sup> (7 a 8 log UFC.g<sup>-1</sup>) neste tempo, indicando que a carne já estaria deteriorada à partir do tempo 6 (DICKENS; INGRAM; HINTON JR, 2004; ECONOMOU et al., 2009). Os resultados da segunda bateria de análises são apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Atividade microbiana (log UFC.g<sup>-1</sup>) na carne de frango submetida aos tratamentos (controle e filme 50%), nos tempos 0, 3 e 6 dias de estocagem, a  $2 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Microrganismo	Tratamento	Tempo <sup>1</sup>		
		0	3	6
Psicrotróficos	Controle	< 1 <sup>Aa</sup>	5,21 <sup>Ab</sup>	6,57 <sup>Ab</sup>
	Filme 50%	< 1 <sup>Aa</sup>	4,49 <sup>Ab</sup>	6,86 <sup>Ab</sup>
Coliformes Totais	Controle	< 1 <sup>Aa</sup>	3,84 <sup>Ab</sup>	4,56 <sup>Ab</sup>
	Filme 50%	< 1 <sup>Aa</sup>	2,62 <sup>Aa</sup>	2,39 <sup>Ba</sup>
Coliformes Termotolerantes	Controle	< 1	< 1	< 1
	Filme 50%	< 1	< 1	< 1
<i>Salmonella</i>	Controle	ausente	ausente	-
	Filme 50%	ausente	ausente	-
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	Controle	< 1	< 1	< 1
	Filme 50%	< 1	< 1	< 1

<sup>1</sup> Os valores correspondem às médias de três repetições. Letras maiúsculas expressam tratamento e letras minúsculas expressam tempo. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Nesta segunda bateria, as peças de peito de frango resfriadas apresentaram contagem inicial de psicrotróficos e coliformes totais baixas (< 1 log UFC.g<sup>-1</sup>). Segundo Ceylan e Fung (2004), o número de micro-organismos presentes no alimento pode determinar a atividade de alguns compostos ativos, uma vez que, segundo Ponce et al. (2008) uma determinada concentração de compostos possui uma capacidade inibitória máxima, e estando

a contagem de micro-organismos acima desta capacidade o controle no crescimento não será efetivo.

Não foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre controle e tratamento nos diferentes tempos em relação ao crescimento de micro-organismos psicrotróficos, mas, nas amostras em que foram utilizados os filmes incorporados com 50% de óleo essencial de alecrim o crescimento de coliformes totais se mostrou significativamente menor no tempo 6 ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao controle.

Santiago-Silva et al. (2009) ao analisarem filmes a base de acetato de celulose incorporados com 25 ou 50% de pediocina (p/p) identificaram que os tratamentos foram mais eficientes no controle de *Listeria innocua* do que de *Salmonella* sp. em amostras de presunto fatiado armazenadas a  $12 \pm 1^\circ\text{C}$ . Já Zinoviadou, Koutsoumanis, Biliaderis (2009) identificaram que filmes a base de proteína isolada do soro de leite incorporados com óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* sp. *Hirtum*) foram mais eficientes em controlar bactérias ácido-láticas que pseudomonas. Ambas as pesquisas mostram que é possível que filmes ativos incorporados de óleos essenciais sejam mais efetivos contra determinados micro-organismos que outros, possivelmente pela susceptibilidade que cada um apresenta aos agentes ativos.

Os resultados mostram que não houve uma redução na contagem de coliformes totais, mas sim, um controle no crescimento destes micro-organismos durante a estocagem. Segundo Quintavalla e Vicini (2002), o controle no crescimento dos micro-organismos por agentes antimicrobianos pode ocorrer por uma redução na taxa de crescimento dos mesmos, um aumento na fase *lag* ou mesmo por inativação direta, por contato, entre os agentes ativos e os micro-organismos, sendo assim, é possível que o tratamento tenha desempenhado pelo menos um destes papéis.

Nas análises de coliformes totais já na fase presuntiva foi observado menor crescimento bacteriano nas placas incubadas com as diluições  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$  (utilizadas para a contagem) de amostras tratadas com filme ativo. As provas confirmativas atestaram o menor crescimento de coliformes totais nas amostras tratadas com filmes, em que o resultado final foi uma significativa redução na contagem destes micro-organismos ( $p \leq 0,05$ ). Isso sugere que filmes com 50% do óleo essencial podem ser eficientes sobre certos coliformes totais e, provavelmente, sobre outros micro-organismos, de modo que novos experimentos podem ser conduzidos, e em outros sistemas alimentícios, para identificá-los.

Stecchini, Sarais e Giavedoni (1993) mostraram ser possível que concentrações eficientes *in vitro* também o sejam *in vivo* ao estudarem o efeito de óleos essenciais de

coentro, cravo, noz moscada e pimenta sobre o crescimento de *Aeromonas hydrophila*. Os pesquisadores citam que não houve diferença entre os resultados obtidos *in vitro* e *in vivo* (carne suína cozida), isto é, a inibição observada *in vitro* se repetiu no sistema *in vivo* para o micro-organismo em questão. Além disso, para Gutierrez, Barry-Ryan e Bourke (2008), a composição de um sistema alimentar pode interferir na atividade do óleo essencial a ponto deste não ser, ou ser pouco efetivo, em um determinado sistema, mas ser bastante efetivo em outro. Assim, a atividade do óleo essencial parece estar relacionada a micro-organismo e sistema, além de outros fatores como temperatura e tempo de exposição.

Além da possibilidade de efeitos positivos sob determinados micro-organismos, parece interessante avaliar maiores concentrações de óleo incorporado, haja vista a melhor resposta diante do aumento da concentração utilizada nos filmes. Caso maiores concentrações reduzam significativamente o crescimento dos micro-organismos passa a ser importante avaliar o impacto sobre a aceitabilidade sensorial, já que o odor e sabor podem se tornar inaceitáveis, como ocorreu em estudo realizado por Gutierrez, Barry-Ryan e Bourke (2008) com óleo essencial de tomilho e erva cidreira. Segundo Burt (2004), se identificado que concentrações muito altas são necessárias para um efeito significativo, uma opção seria o uso de baixas concentrações de mais de um óleo essencial, associando compostos ativos, o que resultaria em um efeito sinérgico.

O pH, assim como na primeira bateria de análises, se mostrou relacionado ao crescimento de micro-organismos deteriorantes, variando entre os tempos. Além das análises microbiológicas e de valor de pH das amostras, nesta segunda etapa foi feita a análise de cor para identificar se os filmes, apesar de não interferirem (até então) no crescimento dos micro-organismos, interfeririam neste importante atributo de qualidade.

Os resultados deste experimento mostraram que não houve variação significativa ( $p > 0,05$ ) nos parâmetros  $L^*a^*b^*$  (comumente utilizados para descrição da cor) em momento algum. A explicação mais plausível é a de que não houve oxidação lipídica ou formação de metamioglobina significativas durante este período, já que não houve variação entre controle e tratamento e, principalmente, no decorrer dos tempos. Alguns autores apontam que compostos presentes no alecrim possuem ação antioxidante (BENTAYEB et al., 2007; FORMANEK et al., 2001; HUSSAIN, 2009; MARIUTTI et al., 2008; SACCHETTI et al., 2005) e são capazes de contribuir para a estabilidade da cor nas carnes, uma vez que evitam a formação de metamioglobina e a oxidação lipídica (DJENANE et al., 2003; SÁNCHEZ-ESCALANTE et al., 2001).

## 6 CONCLUSÕES

- A análise antimicrobiana *in vitro* mostrou que filmes incorporados com 20%, 30%, 40% e 50% foram igualmente eficientes para controlar o crescimento de micro-organismos sob os mesmos.
- A análise das propriedades mecânicas mostrou que filmes incorporados com as menores concentrações de óleo essencial foram os mais resistentes a aplicação de tensão em tração e também os mais rígidos, já a elongação não variou entre os tratamentos.
- O uso de filmes a base de acetato de celulose incorporados com 20% de óleo essencial não reduziu de maneira significativa o crescimento de micro-organismos psicrotróficos e coliformes totais na carne de frango resfriada, mas, filmes incorporados com 50% de óleo essencial foram eficientes no controle de coliformes totais.
- Os valores de pH na carne de frango não variaram significativamente com o uso de filmes incorporados com óleo essencial, mas, variaram com o tempo. A cor das amostras de carne não variou nem com o tempo nem com o uso dos filmes.
- Filmes a base de acetato de celulose incorporados com 50% (v/p) de óleo essencial de alecrim podem ser considerados o melhor tratamento, já que apresentaram mesma resistência e elongação de filmes a base de acetato de celulose sem óleo essencial incorporado e possuem significativa atividade antimicrobiana *in vitro* contra micro-organismos mesófilos de carne de frango e contra coliformes totais em carne de frango resfriada.

## REFERÊNCIAS

AASLYNG, M. D.; OKSAMA, M.; OLSEN, E. V.; BEJERHOLM, C.; BALTZER, M.; ANDERSEN, G.; BREDIE, W. L. P.; BYRNE, D. V.; GABRIELSEN, G. The impact of sensory quality of pork on consumer preference. **Meat Science**, Barking, v. 76, n. 1, p. 61-73, 2006.

ABEF – Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frango. **Apresentação do balanço das exportações 2009**. São Paulo, 2009. Disponível em: <[http://www.abef.com.br/noticias\\_portal/exibenoticia.php?notcodigo=1708](http://www.abef.com.br/noticias_portal/exibenoticia.php?notcodigo=1708)>. Acesso em: 01 mar. 2010.

ABIEC – Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. **Exportação mundial de carne bovina**. São Paulo, 2009. Disponível em: <[http://www.abiec.com.br/download/stat\\_mercadomundial.pdf](http://www.abiec.com.br/download/stat_mercadomundial.pdf)>. Acesso em: 05 mai. 2009.

ÁLVAREZ, M. F. Revisión: Envasado activo de los alimentos. **Food Science and Technology International**, London, v. 6, n. 2, p. 97-108, 2000.

ÁLVAREZ-ASTORGA, M.; CAPITA, P.; ALONSO-CALLEJA, C.; MORENO, B.; GARCÍA-FERNÁNDEZ, M. C. Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. **Meat Science**, Barking, v. 62, n. 1, p. 45-50, 2002.

ANTUNEZ, H. C. S.; COSTA, C. S.; SILVA, W. P.; SOARES, G. J. D. Efeito do ácido láctico e da radiação gama na eliminação de *Pseudomonas* spp. e na produção de amônia em peito de frango desossado resfriado. **Alimentos e Nutrição**, Marília, v. 17, n. 4, p. 367-372, 2006.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo**. v. 25, n. 2, 2009.

APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Review of antimicrobial food packaging. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Berlin, v. 3, n. 2, p. 113-126, 2002.

ARAUJO-FARRO, P. C. A.; PODADERA, G.; SOBRAL, P. J. A.; MENEGALLI, F. C. Development of films based on quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willdenow) starch. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 81, n. 4, p. 839–848, 2010.

ARVANITOYANNIS, I.; PSOMIADOU, E.; NAKAYAMA, A. Edible films made from sodium caseinate, starches, sugar or glycerol. Part 1. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.31, n. 2, p. 179-192, 1996.

ASTM – American Society for Testing and Materials. **Standard practice for conditioning plastics for testing – D618-08**. Pennsylvania, 2008.

ASTM – American Society for Testing and Materials. **Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting – D882-09**. Pennsylvania, 2009.

ATARÉS, L.; DE JESÚS, C.; TALENS, P.; CHIRALT, A. Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 99, n. 3, p. 384-391, 2010.

ATTI-SANTOS A. C.; ROSSATO, M.; PAULETTI, G. F.; ROTA, L. D.; RECH, J. C.; PANSERA, M. R.; AGOSTINI, F.; ATTI-SERAFINI, L.; MOYNA, P. Physico-chemical evaluation of *Rosmarinus officinalis* L. essential oils. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 6, p. 1035-1039, 2005.

AYALA-ZAVALA, J. F.; SOTO-VALDEZ, H.; GONZÁLEZ-LÈON, A.; ÀLVAREZ-PARRILLA, E.; MARTÌN-BELLOSO, O.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Microencapsulation of cinnamon leaf (*Cinnamomum zelanycum*) and garlic (*Allium sativum*) oils in b-cyclodextrin. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, Dordrecht, v. 60, p. 359–368, 2008.

BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 61, n.1, p. 1-10, 2000.

BALAMATSIA, C. C., PALEOLOGOS, E. K., KONTOMINAS, M. G., SAVVAIDIS, I. N. Correlation between microbial flora, sensory changes and biogenic amines formation in fresh chicken meat stored aerobically or under modified atmosphere packaging at 4° C: possible role of biogenic amines as spoilage indicators. **Antonie van Leeuwenhoek**, Amsterdam, v. 89, n. 1, p. 9–17, 2006.

BARBUT, S. Acceptance of Fresh Chicken Meat Presented Under Three Light Sources. **Poultry Science**, Champaign, v. 80, n. 1, p. 101–104, 2001.

BATISTA, J. A.; TANADA-PALMU, P. S.; GROSSO, C. R. F. Efeito da adição de ácidos graxos em filmes à base de pectina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 781-788, 2005.

BENTAYEB, K.; RUBIO, C.; BATLE, R.; NERÍN, C. Direct determination of carnosic acid in a new active packaging based on natural extract of rosemary. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 389, n. 6, p. 1989–1996, 2007.

BERSOT, L. S.; GILLIO, C.; TAVOLARO, P.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B. D. G. M.; DESTRO, M. T. Behaviour of *L. monocytogenes* in sliced, vacuum-packed mortadella, **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 39, n. 3, p. 514-516, 2008.

BONZANINI, R.; GONÇALVES, M. C. Propriedades térmicas e morfológicas de compósitos de acetato de celulose/montmorilonita na presença de compatibilizante. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 17., 2006, Foz do Iguaçu. **Anais eletrônicos...** Foz do Iguaçu: Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 2006. Disponível em: <<http://www.metallum.com.br/17cbecimat/resumos/17cbecimat-201-010.pdf>>. Acesso em: 12 jun. 2010.

BOZIN, B.; MIMICA-DUKIC, N.; SAMOJLIK, I.; JOVIN, E. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 19, p. 7879–7885, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, DF: ANVISA, 2001. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144&word=>>>. Acesso em 02 abr. 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 17, de 17 de março de 2008**. Dispõe sobre Regulamento Técnico sobre Lista Positiva de Aditivos para Materiais Plásticos destinados à Elaboração de Embalagens e Equipamentos em Contato com Alimentos. Brasília, DF: ANVISA, 2008. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis/>>. Acesso em 13 abr. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003**. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Brasília, DF: MAPA, 2003b. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>>. Acesso em: 18 mai. 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 70, de 6 de outubro de 2003**. Institui o programa de redução de patógenos, monitoramento microbiológico e controle de *Salmonella* sp. em carcaças de frangos e perus. Brasília, DF: MAPA, 2003a. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 04 abr. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 20, de 21 de julho de 1999**. Oficializa os Métodos Analíticos Físico-Químicos para Controle de Produtos Carneos e seus Ingredientes - Sal e Salmoura. Brasília, DF: MAPA, 1999. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 5 abr. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 101, de 11 de agosto de 1993**. Aprova e oficializa os métodos analíticos para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. Brasília, DF: MAPA, 1993. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 5 abr. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 210, de 10 de novembro de 1998**. Aprova o Regulamento Técnico da Inspeção Tecnológica e Higiênco-Sanitária de Carne de Aves. Brasília, DF: MAPA, 1998. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1129>>. Acesso em: 01 jan. 2009.

BUNKOVÁ, L.; BUNKA, F.; KLCOVSKÁ, P.; MRKVICKA, V.; DOLEZALOVÁ, M.; KRÁCMAR, S. Formation of biogenic amines by Gram-negative bacteria isolated from poultry skin. **Food Chemistry**, London, v. 121, n. 1, p. 203-206, 2010.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CAGRI, A.; USTUNOL, Z.; RYSER, E. T. Antimicrobial, mechanical, and moisture barrier properties of low pH whey protein-based edible films containing *p*-Aminobenzoic or sorbic acid. **Food Science**, Chicago, v. 66, n. 6, p. 865-870, 2001.

CANILLAC, N.; MOUREY, A. Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. **Food Microbiology**, London, v. 18, n. 3, p. 261-268, 2001.

CARPENTER, C. E.; CORNFORTH, D. P.; WHITTIER, D. Consumer preferences for beef color and packaging did not affect eating satisfaction. **Meat Science**, Barking, v. 57, n. 4, p. 359-363, 2001.

CARVALHO, A. C. F. B.; CORTEZ, A. L. L. *Salmonella* spp. em carcaças, carne mecanicamente separada, linguiças e cortes comerciais de frango. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1465-1468, 2005.

CARVALHO, L. T.; COSTA, P. S.; CARVALHO, A. L. T. Análise de perigos e pontos críticos de controle na linha de produção de frango inteiro congelado. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 95, p.34-42, 2002.

CASSU, S. N.; FELISBERTI, M. I. Comportamento dinâmico-mecânico e relaxações em polímeros e blendas poliméricas. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 255-263, 2005.

CASTEDO, A. **Lo más ecológico... ¿que no haya vacas?** Disponível em: <[http://www.elpais.com/articulo/sociedad/ecologico/haya/vacas/elpepisc/20090724elpepisc\\_1/Tes](http://www.elpais.com/articulo/sociedad/ecologico/haya/vacas/elpepisc/20090724elpepisc_1/Tes)>. Acesso em: 10 ago. 2009.

CELIK TAS, O. Y.; KOCABAS, E. E. H.; BEDIR, E.; SUKAN, F. V.; OZEK, T.; BASER, K. H. C. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. **Food Chemistry**, London, v. 100, n. 2, p. 553–559, 2007.

CEPEA – Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. **Preços do frango CEPEA/ESALQ**. Piracicaba, 2010. Disponível em: <<http://www.cepea.esalq.usp.br/frango/>>. Acesso em: 23 ago. 2010.

CERCENÁ, R.; ANDREANI, L.; SOLDI, V. Influência de plastificantes não-tradicionais na temperatura de transição vítrea de filmes de acetato de celulose. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 32., 2009, Fortaleza. **Anais eletrônicos...** Fortaleza: Sociedade Brasileira de Química, 2009. Disponível em: <<http://sec.sbq.org.br/cdrom/32ra/resumos/T2157-1.pdf>>. Acesso em: 12 jun. 2010.

CERQUEIRA, D. A.; FILHO, G. R.; CARVALHO, R. A.; VALENTE, A. J. M. Caracterização de acetato de celulose obtido a partir do bagaço de cana-de-açúcar por <sup>1</sup>H-RMN. **Polímeros**, São Carlos, v. 20, n. 2, p. 85-91, 2010.

CEYLAN, E.; FUNG, D. Y. C. Antimicrobial activity of spices. **Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology**, Trumbull, v. 12, n. 1, p. 1-55, 2004.

CHIAPPINI E.; GALLI, L.; PECILE, P.; VIERUCCI, A.; MARTINO, M. Results of a 5-year prospective surveillance study of antibiotic resistance among *Salmonella* enterica isolates and ceftriaxone therapy among children hospitalized for acute diarrhea. **Clinical Therapeutics**, Princeton, v. 24, n. 10, p. 1585-1594, 2002.

CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; DEBRUYNE, T.; HERPNANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L; VLIETINCK, A. J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plant growing in the democratic republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 79, n. 2, p. 213-220, 2002.

COMA, V. Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. **Meat Science**, Barking, v. 78, n. 1-2, p. 90-103, 2008.

COOKSEY, K. Antimicrobial food packaging materials. **Additives for Polymers**, Oxford, v. 2001, n. 8, p. 6-10, 2001.

COOKSEY, K. Effectiveness of antimicrobial food packaging materials. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 22, n. 10, p. 980-987, 2005.

CORBO, M. R.; BEVILACQUA, A.; CAMPANIELLO, D.; D'AMATO, D.; SPERANZA, B.; SINIGAGLIA, M. Prolonging microbial shelf life of foods through the use of natural compounds and non-thermal approaches – a review. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 44, n. 2, p. 223-241, 2009.

COSTA, F. N.; ROSSI JÚNIOR, O. D. Bactérias do gênero *Aeromonas* em abatedouro de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 54, n. 5, p. 534-535, 2002.

COUTINHO, F. M. B.; MELLO, I. L.; SANTA MARIA, L. C. Polietileno: principais tipos, propriedades e aplicações. **Polímeros**, São Carlos, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2003.

DAVIS, G. Characterization and characteristics of degradable polymer sacks. **Materials Characterization**, New York, v. 51, n. 2-3, p. 147– 157, 2003.

DE SOUSA, G. B.; TAMAGNINI, L. M.; OLMOS, P. D.; GONZALEZ, R. D. Microbial enumeration in ready-to-eat foods and their relationship to good manufacturing practice. **Journal of Food Safety**, Westport, v. 22, n. 1, p. 27–38, 2002.

DEVLIEGHERE, F.; VERMEIREN, L.; DEBEVERE, J. New preservation technologies: Possibilities and limitations. **International Dairy Journal**, Barking, v. 14, n. 4, p. 273-285, 2004.

DICKENS, J. A.; INGRAM, K. D.; HINTON JR, A. Effects of Applying Safe2O Poultry Wash to Broiler Wings on Shelf Life, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonads*, *Staphylococcus* species, and psychrotrophic bacteria levels after three, seven, and ten days of storage. **Poultry Science**, Champaign, v. 83, n. 6, p. 1047-1050, 2004.

DJENANE, D.; SÁNCHEZ-ESCALANTE, A.; BELTRÁN, J. A.; RONCALÉS, P. Extension of the shelf life of beef steaks packaged in a modified atmosphere by treatment with rosemary and displayed under UV-free lighting. **Meat Science**, Barking, v. 64, n. 4, p. 417-426, 2003.

DORMAN, H. J. D.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 88, n. 2, p. 308-316, 2000.

DU, W. X.; OLSEN, C. W.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MCHUGH, T. H.; LEVIN, C. E.; FRIEDMAN, M. Effects of allspice, cinnamon, and clove bud essential oils in edible apple films on physical properties and antimicrobial activities. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 74, n. 7, p. 372-378, 2009.

DUSAN, F.; MARIÁN, S.; KATARÍNA, D.; DROBROSLAVA, B. Essential oils - their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability, **Toxicology in Vitro**, Oxford, v. 20, n. 8, p. 1435–1445, 2006.

DUTTA, P. K.; TRIPATHI, S.; MEHROTRA, G. K.; DUTTA, J. Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 4, p. 1173-1182, 2009.

ECONOMOU, T.; POURNIS, N.; NTZIMANI, A.; SAVVAIDIS, I. N. Nisin-EDTA treatments and modified atmosphere packaging to increase fresh chicken meat shelf-life. **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 4, p. 1470-1476, 2009.

EDGAR, K. J.; BUCHANAN, C. M.; DEBENHAM, J. S.; RUNDQUIST, P. A.; SEILER, B. D.; SHELTON, M. C.; TINDALL, D. Advances in cellulose ester performance and application. **Progress in Polymer Science**, Elmsford, v. 26, n. 9, p. 1605-1688, 2001.

FIELDS, P. I. Pathogenesis, Evolution, and Comparative Genomics of *Salmonella* serotypes. **American Society for Microbiology**. Washington, 2009. Disponível em: <[http://www.asm.org/asm/?option=com\\_content&view=article&id=19601&title=Division+of+Foodborne%2C+Bacterial%2C+and+Mycotic+Diseases&Itemid=296](http://www.asm.org/asm/?option=com_content&view=article&id=19601&title=Division+of+Foodborne%2C+Bacterial%2C+and+Mycotic+Diseases&Itemid=296)>. Acesso em: 4 abr. 2010.

FISHER, K.; PHILLIPS, C. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 19, n. 3, p. 156-164, 2008.

FLORENTINO, E. R.; LEITE JR, A. F.; SÁ, S. N.; ARAÚJO, M. S. O.; MARTINS, R. S. Avaliação da qualidade microbiológica da carne moída comercializada em Campina Grande – PB. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 11, n. 47, p. 38-41, 1997.

FORMANEK, Z.; KERRY, J. P.; HIGGINS, F. M.; BUCKLEY, D. J.; MORRISSEY, P. A.; FARKAS, J. Addition of synthetic and natural antioxidants to  $\alpha$ -Tocopheryl acetate supplemented beef patties: effects of antioxidants and packaging on lipid oxidation. **Meat Science**, Barking, v. 58, n. 4, p. 337-341, 2001.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Ateneu, 1996, 182 p.

FRAQUEZA, M. J.; FERREIRA, M. C.; BARRETO, A. S. Deterioração da carne de peru embalada em aerobiose e em atmosfera modificada sua relação com os teores de azoto básico volátil total. In: ENCONTRO DE QUÍMICA DOS ALIMENTOS, 8., 2007, Beja. **Anais eletrônicos...** Beja: Sociedade Portuguesa de Química, 2007. Disponível em: <[http://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/474/1/Congresso\\_Qu%3%admica%20dos%20Alimentos.pdf](http://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/474/1/Congresso_Qu%3%admica%20dos%20Alimentos.pdf)>. Acesso em: 22 mar. 2010.

FREITAS, M. F. L.; LEÃO, A. E. D. S.; STAMFORD, T. L. M.; MOTA, R. A. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em carcaças de frango. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 271-282, 2004.

GACHKAR, L.; YADEGARI, D.; REZAEI, M. B.; TAGHIZADEH, M.; ASTANEH, S. A.; RASOOLI, I. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. **Food Chemistry**, Tehran, v. 102, n. 3, p. 898-904, 2007

GARCIA, M. A.; PINOTTI, A.; ZARITZKY, N. E. Physicochemical, water vapor barrier and mechanical properties of corn starch and chitosan composite films. **Starch**, Weinheim, v. 58, n. 9, p. 453-463, 2006.

- GAVA, A. J. **Princípio de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 2002. 286 p.
- GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B.; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações**. São Paulo: Nobel, 2008. 512 p. (Nova edição revista e ampliada).
- GAYA, L. G. **Estudo genético da qualidade de carne em linhagem macho de frangos de corte**. 2006, 127f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006.
- GEMILI, S.; YEMENICIOGLU, A.; ALTINKAYA, S. A. Development of cellulose acetate based antimicrobial food packaging materials for controlled release of lysozyme. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 90, n. 4, p. 453–462, 2009.
- GENENA, A. K. **Extração e caracterização do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): estudo de sua ação antioxidante**. 2005, 179f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- GENENA, A. K.; HENSE, H.; SMÂNIA JUNIOR, A.; SOUZA, S. M. Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) – a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 463-469, 2008.
- GILL, A.O.; DELAQUIS, P.; RUSSO, P.; HOLLEY, R.A. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 73, n. 1, p. 83–92, 2002.
- GNANASAMBANDAM, R., HETTIARACHCHY, N. S., COLEMAN, M. Mechanical and barrier properties of rice bran films. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n. 2, p. 395-398, 1997.
- GOMES, H. A. S. **Obtenção, caracterização mecânica de pet/amido plastificado e o cálculo das incertezas das medições**. 2006, 89f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) – Universidade São Francisco, Itatiba, 2006.
- GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ DE LACEY, A.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MONTERO, P. Biodegradable gelatin-chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. **Food Microbiology**, London, v. 27, n. 7, p. 889-896, 2010.
- GÓMEZ-ESTACA, J.; MONTERO, P.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, F.; ALEMÁN, A.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C. Physical and chemical properties of tuna-skin and bovine-hide gelatin films with added aqueous oregano and rosemary extracts. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 23, n. 5, p. 1334–1341, 2009.
- GONTARD, N.; GUILBERT, S. Bio-packaging: technology and properties of edible and/or biodegradable material of agricultural origin. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 1, p. 3-15, 1996
- GONZALEZ, R. D.; TAMAGNINI, L. M.; OLMOS, P. D.; DE SOUSA, G. B. Evaluation of a chromogenic medium for total coliforms and *Escherichia coli* determination in ready-to-eat foods. **Food Microbiology**, London, v. 20, n. 5, p. 601–604, 2003.

GROSSO, C. R. F. **Efeito da adição de surfactantes e do ajuste de pH sobre filmes a base de gelatina, triacetina, ácidos graxos e ceras de carnaúba e de cana-de-açúcar.** 2006, 220f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

GUERRERO, P.; RETEGI, A.; GABILONDO, N.; LA CABA, K. Mechanical and thermal properties of soy protein films processed by casting and compression. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 100, n. 1, p. 145–151, 2010.

GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 124, n. 1, p. 91–97, 2008.

HAFEZ, H. M. Perspectiva global de enfermidades emergentes e re-emergentes em aves. In: CONFERÊNCIA APINCO 2005 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. 2005, Santos. **Anais...** Santos: FACTA, 2005, p. 123-138.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 86, n. 6, p. 985–990, 1999.

HAN, J. H. Antimicrobial Food Packaging. **Food Technology**, Chicago, v. 54, n. 3, p. 56–65, 2000.

HAN, J. H.; FLOROS, J. D. Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity. **Journal of Plastic Film and Sheeting**, London, v. 13, n. 4, p. 287-298, 1997.

HARPAZ, S.; GLATMAN, L.; DRABKIN, V.; GELMAN, A. Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwaterreared Asian sea bass fish (*Lates calcarifer*). **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 66, n. 3, p. 410–417, 2003.

HENRIQUE, C. M. **Caracterização de filmes de féculas modificadas de mandioca como subsídios para aplicação em pós-colheita de hortícolas.** 2002, 154f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade do Estado de São Paulo, Botucatu, 2002.

HINTON JR., A.; CASON, J. A.; INGRAM, K. D. Enumeration and identification of yeasts associated with commercial poultry processing and processing and spoilage of refrigerated broiler carcasses. **Journal of Food Protection**, v. 65, n. 6, p. 993–998, 2002.

HOUBEN, J. H.; VAN DIJK, A.; EIKELENBOOM, G.; HOVING-BOLINK, A. H. Effect of dietary vitamin E supplementation, fat level and packaging on colour stability and lipid oxidation in minced beef. **Meat Science**, Barking, v. 55, n. 3, p. 331-336, 2000.

HUSSAIN, A. I. **Characterization and biological activities of essential oils of some species of Lamiaceae.** 2009, 257f. Thesis (Doctor oh Philosphy in Chemistry) - Faculty of Sciences, University of Agriculture, Faisalabad, 2009.

IMRAN, M.; EL-FAHMY, S.; REVOL-JUNELLES, A.; DESOBRY, S. Cellulose derivative based active coatings: Effects of nisin and plasticizer on physico-chemical and antimicrobial properties of hydroxypropyl methylcellulose films. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 81, n. 2, p. 219-225, 2010.

ISIGIDI, B. K.; MATHIEU, A.; DEVRIESE, L. A.; GODARD, C.; VAN HOOF, J. Enterotoxin production in different *Staphylococcus aureus* biotypes isolated from food and meat plants. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 72, n. 11, p. 16–20, 1992.

JAMES, C.; VINCENT, C.; ANDRADE LIMA, T. I.; JAMES, S. J. The primary chilling of poultry carcasses: a review. **International Journal of Refrigeration**, Surrey, v. 29, n. 6, p. 847-862, 2006.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern food microbiology**. 7.ed. New York: Springer Science, 2005. 790 p.

JIN, T.; ZHANG, H. Biodegradable polylactic acid polymer with nisin for use in antimicrobial food packaging. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 73, n. 3, p. 127-134, 2008.

KECHICHIAN, V.; DITCHFIELD, C.; VEIGA-SANTOS, P.; TADINI, C. C. Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. **LWT - Food Science and Technology**, Zurich, v. 43, n. 7, p. 1088-1094, 2010.

KERRY, J. P.; O'GRADY, M. N.; HOGAN, S. A. Past, current and potential utilisation of active and intelligent packaging systems for meat and muscle-based products: a review. **Meat Science**, Barking, v. 74, n. 1, p. 113–130, 2006.

KOCA, C.; SARIMEHMETOGLU, B. Isolation and identification of motile *Aeromonas* spp. in turkey meat. **Ankara Üniv Vet Fak Derg**, Ankara, v. 56, n. 2, p. 95-98, 2009

KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. *Enterobacteriaceae*, coliforms, and *Escherichia coli* as quality and safety indicators. In: DOWES, F. P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association, 2001, cap. 8, p. 69–82.

KRIZEK, M., VÁCHA, F., VORLOVÁ, L., LUKÁSOVÁ, J., CUPÁKOVA, S. Biogenic amines in vacuum-packed and non-vacuum-packed flesh of carp (*Cyprinus carpio*) stored at different temperatures. **Food Chemistry**, London, v. 88, n. 2, p. 185–191, 2004.

KROCHTA, J. M. Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. In: GENNADIOS, A. **Protein-based films and coatings**. Boca Raton: CRC Press LLC, 2002, cap. 1, p. 21-61.

LABADIE, J. Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. **Meat Science**, Barking, v. 52, n. 3, p. 299-305, 1999.

LEITÃO, M. F. F. Qualidade e segurança alimentar em produtos avícolas. In: CONFERÊNCIA APINCO 2001 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS. 2001, Campinas, **Anais...** Campinas: FACTA, 2001, p. 181-190.

LIMA, A. M. F.; ANDREANI, L.; SOLDI, V.; BORSALI, R. Influência da adição de plastificante e do processo de reticulação na morfologia, absorção de água e propriedades mecânicas de filmes de alginato de sódio. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 4, p. 832-837, 2007.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2002. 544 p.

MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E; GARCÍA, M. A.; MARTINO, M. N.; ZARITZKY, N. E. Mechanical and thermal properties of yam starch films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 19, n. 1, p. 157-164, 2005.

MANO, S. B.; PEREDA, J. A. O; FERNANDO, G. D. G. Aumento da vida útil e microbiologia da carne suína embalada em atmosfera modificada. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 1-10, 2002.

MARIUTTI, L. R. B.; BARRETO, G. P. M.; BRAGAGNOLO, N.; MERCADANTE, A. Z. Free radical scavenging activity of ethanolic extracts from herbs and spices commercialized in Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 51, n. 6, p. 225-1232, 2008.

MAROSO, M. T. D. **Efeito da redução de temperatura de carcaças de frango na multiplicação de microorganismos**. 2008, 69f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

MARZOUK, Z.; NEFFATI, A.; MARZOUK, B.; CHRAIEF, I.; FATHIA, K.; GHEDIRA, L. C.; BOUKEF, K. Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. oil from Kasrine. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, Helsinki, v. 4, n. 3-4, p. 61-65, 2006.

MATAN, N.; RIMKEEREE, H.; MAWSON, A. J.; CHOMPREEEDA, P.; HARUTHAITHANASAN, V.; PARKER, M. Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 107, n. 22, p. 180–185, 2006.

MEAD, G. C. Microbiological quality of poultry meat: a review. **Brazilian Journal of Poultry Science**, Campinas, v. 6, n. 3, p. 135-142, 2004.

MELO, N. R.; SOARES, N. F. F.; ANDRADE, N. J.; LIMA, D. V.; PIRES, A. C. S. Avaliação de eficiência de filme antimicrobiano incorporação com nisina sobre o crescimento de *Staphylococcus sp.* **Alimentos e Nutrição**, Marília, v. 17, n. 1, p. 91-95, 2006.

MENDIETA-TABOADA, O.; CARVALHO, R. A.; SOBRAL, P. J. A. Análise dinâmico-mecânica: aplicações em filmes comestíveis. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 384-393, 2008.

MESQUITA, J. B.; ANDRADE, E. T.; CORRÊA, P. Modelos matemáticos e curvas de umidade de equilíbrio de sementes de jacarandá-da-bahia, angico-vermelho e óleo-copaíba. **Cerne**, Lavras, v. 7, n. 2, p. 12-21, 2001.

MING, X.; WEBER, G. H.; AYRES, J. W.; SANDINE, W. E. Bacteriocins applied to food packaging materials to inhibit *Listeria monocytogenes* on meats. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 62, n. 2, p. 413-415, 1997.

MIYAGUSKU, L.; CHEN, F.; LEITÃO, M. F. F.; BAFFA, O. Avaliação microbiológica e sensorial da vida-útil de cortes de peito de frango irradiados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p. 7-16, 2003. (Supp. 0).

MORAES, A. R. F.; GOUVEIA, L. E. R.; SOARES, N. F. F.; SANTOS, M. M. S.; GONÇALVES, M. P. J. C. Desenvolvimento e avaliação de filme antimicrobiano na conservação de manteiga. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, p. 33-36, 2007. Suplemento.

MOREIRA, M. R.; PONCE, A. G.; DEL VALLE, C. E.; ROURA, S. I. Effects of clove and tea tree oils on *Escherichia coli* o157:h7 in blanched spinach and minced cooked beef. **Journal of Food Processing and Preservation**, Westport, v. 31, n. 4, p. 379–391, 2007.

NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C.; SILVA, G. L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 247-256, 2000.

NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards. **M2-A8/Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**. 8. ed., v. 23, n. 1, 2003.

NETTO, C. G. Pesquisa mostra ação do alho e da sálvia na carne de frango. **Jornal da UNICAMP**, Campinas, n. 428, p. 11, 2009.

NEVES, M. F.; ROSSI, R. M.; MELO, A S. A embalagem como um elemento de marketing: um estudo no setor de carnes bovinas no Brasil. In: ASAMBLEA ANUAL DE CLADEA, 40., 2005, Santiago. **Anais eletrônicos...** Santiago: Conselho Latino Americano das Escolas de Administração, 2005. Disponível em: <<http://www.favaneves.org/arquivos/1embalagem.pdf>>. Acesso em: 25 ago. 2010.

NTZIMANI, A. G.; PALEOLOGOS, E. K.; SAVVAIDIS, I. N.; KONTOMINAS, M. G. Formation of biogenic amines and relation to microbial flora and sensory changes in smoked turkey breast fillets stored under various packaging conditions at 4° C. **Food Microbiology**, London, v. 25, n. 3, p. 509–517, 2008.

NUNES, C. N.; CASTRO, A. M. G. O agronegócio do frango: um estudo sobre os consumidores de carne de frango no triângulo mineiro. In.: CONGRESSO VIRTUAL BRASILEIRO DE ADMINISTRAÇÃO, 2007, **Anais eletrônicos...** Convibra, 2007. Disponível em: < <http://www.convibra.com.br/2007/congresso/artigos/120.pdf>>. Acesso: 23 ago. 2010.

OJAGH, S. M.; REZAEI, M.; RAZAVI, S. H.; HOSSEINI, S. M. H. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. **Food Chemistry**, London, v. 122, n. 1, p. 161-166, 2010.

OLIVEIRA, L. M. Filmes plásticos incorporados de agentes antimicrobianos. **Informativo CETEA: Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens**, Campinas, v. 14, n. 2, p. 1-4, 2002.

OLIVEIRA JR, A.R. **Obtenção e caracterização de acetato de celulose modificado com organossilano**. 2002, 91f. Dissertação (Mestrado em Química\_ - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

OLIVEIRA, L. M.; ALVES, R. M. V.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; PADULA, M.; GARCIA, E. E. C.; CPLTRO, L. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis**. Campinas: CETEA/ITAL, 1996, 202p.

- OLIVEIRA, A. M.; GONÇALVES, M. O.; SHINOHARA, N. K. S.; STAMFORD, T. L. M. Manipuladores de alimentos: um fator de risco. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.114/115, p.12-19, 2003.
- OLIVEIRA, L. M.; OLIVEIRA, P. A. P. L. V. Revisão: principais agentes antimicrobianos utilizados em embalagens plásticas. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 161-165, 2004.
- OLIVO, N. **Bairro da juventude: 60 anos de saber e sabor**. 3. ed. Criciúma: Olivo, 2009. 288 p.
- OUATTARA, B.; SIMARD, R. E., HOLLEY, R. A., PIETTE, G. J.-P.; BÉGIN, A. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 37, n. 2-3, p. 155-162, 1997.
- PADGETT, T.; HAN, I. Y.; DAWSON, P. L. Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. **Journal Food Protection**, Des Moines, v. 61, n. 10, p. 1130-1335, 1998.
- PANDIT, V. A.; SHELEF, L. A. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). **Food Microbiology**, London, v. 11, n. 1, p. 57-63, 1994.
- PARDI, M. C.; SANTOS, I. F.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2. ed. Goiânia: UFG, 2006. 1150 p.
- PELISSER, M. R.; MENDES, S. D. C.; SUTHERLAND, A. D.; BATISTA, C. R. V. Detection of *Listeria* species in refrigerated chicken carcasses using clearview™ and a modified conventional culture method. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 113-116, 2001.
- PEPE, O.; BLAIOTTA, G.; BUCCI, F.; ANASTASIO, M.; APONTE, M.; VILLANI, F. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxin A in breaded chicken products: detection and behavior during the cooking process. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 72, n. 11, p. 7057-7062, 2006.
- PÉREZ-PÉREZ, C.; REGALADO-GONZÁLEZ, C.; RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, C. A.; BARBOSA-RODRÍGUEZ, J. R.; VILLASEÑOR-ORTEGA, F. Incorporation of antimicrobial agents in food packaging films and coatings. **Advances in Agricultural and Food Biotechnology**, p. 193-216, 2006.
- PINTO, D. C. C.; MANO, S. B.; VITAL, H. C.; OLIVEIRA, L. A. T.; TELLO, M. V. P.; POMBO, C. R. Avaliação da irradiação gama em peitos de frangos refrigerados monitorados pela contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas viáveis e pH. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, Niterói, v. 12, n. 1-3, p. 37-41, 2005.
- PINTORE, G.; USAI, M.; BRADESI, P.; JULIANO, C.; BOATTO, G.; TOMI, F.; CHESSA, M.; CERRI, R.; CASANOVA, J. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v. 17, n. 1, p. 15-19, 2002.

PONCE, A. G.; ROURA, S. I.; DEL VALLE, C. E.; MOREIRA, M. R. Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: *in vitro* and *in vivo* studies. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 49, n. 2, p. 294–300, 2008.

PRANOTO, Y.; RAKSHIT, S. K.; SALOKHE, V. M. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. **LWT - Food Science and Technology**, Zurich, v. 38, n. 8, p. 859-865, 2005.

PUC-RIO – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. **Polímeros: introdução e conceitos fundamentais**. Disponível em: <[http://www2.dbd.puc-rio.br/pergamum/tesesabertas/0312428\\_05\\_cap\\_02.pdf](http://www2.dbd.puc-rio.br/pergamum/tesesabertas/0312428_05_cap_02.pdf)>. Acesso em: 16 jul. 2010.

QIAO, M.; FLETCHER, D. L.; NORTHCUTT, J. K.; SMITH, D. P. The Relationship Between Raw Broiler Breast Meat Color and Composition. **Poultry Science**, Champaign, v. 81, n. 3, p. 422–427, 2002.

QUINTAVALLA, S.; VICINI, L. Antimicrobial food packaging in meat industry. **Meat Science**, Barking, v. 62, n. 3, p. 373-380, 2002.

RAY, B. **Fundamental Food Microbiology**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2003. 600 p.

RHIM, J. W.; GENNADIOS, A.; HANDA, A.; WELLER, C. L.; HANNA, M. A. Solubility, Tensile, and Color Properties of Modified Soy Protein Isolate Films. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 10, p. 4937-4941, 2000.

RIBEIRO, S. C. A.; RIBEIRO, C. F. A.; PARK, K. J.; ARAUJO, E. A. F.; TOBINAGA, S. Alteração da cor da carne de mapará (*Hypophthalmus edentatus*) desidratada osmoticamente e seca. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 9, n. 2, p. 125-135, 2007.

RIGO, L.N. **Desenvolvimento e caracterização de filmes comestíveis**. 2006. 130f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai das Missões, Erechim, 2006.

RIOS, J. L.; RECIO, M. C.; VILLAR, A. Screening methods for natural antimicrobial products with antimicrobial activity: a review of the literature. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 23, n. 2-3, p. 127– 149, 1988.

RITTER, R.; BERGMANN, G. P. Período de vida de prateleira de frangos resfriados e refrigerados. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 107, p.95-102, 2003.

RODRIGUES, A. C. A.; PINTO, P. S. A.; VANETTI, M. C. D.; BEVILACQUA, P. D.; PINTO, M. S.; NERO, L. A. Análise e monitoramento de pontos críticos no abate de frangos utilizando indicadores microbiológicos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 1948-1953, 2008.

ROJAS-GRAÜ, M. A.; AVENA-BUSTILLOS, R.J.; OLSEN, C.; FRIEDMAN, M.; HENIKA, P. R.; MARTÍN-BELLOSO, O.; PAN, Z.; MCHUGH, T. H. Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate–apple puree edible films. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 81, n. 3, p. 634–641, 2007.

SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, London, v. 91, n. 4, p. 621–632, 2005.

SAHA, S. C.; CHOPADE, B. A. Radiation sensitivity of *Acinetobacter* spp. and their redicidation for preservation of meat at low temperature. **Bangladesh Medical Research Council Bulletin**, Bangladesh, v. 35, n. 2, p. 33-40, 2009.

SÁNCHEZ-ESCALANTE, A.; DJENANE, D.; TORRESCANO, G.; BELTRÁN, J. A.; RONCALÉS, P. The effects of ascorbic acid, taurine, carnosine and rosemary powder on colour and lipid stability of beef patties packaged in modified atmosphere. **Meat Science**, Barking, v. 58, n. 4, p. 421-429, 2001.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, L.; GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, C.; CHIRALT, A.; CHÁFER, M. Physical and antimicrobial properties of chitosan–tea tree essential oil composite films. **Journal of Food Engineering**, Essex, v. 98, n. 4, p. 443–452, 2010.

SANTIAGO-SILVA, P.; SOARES, N. F. F.; NÓBREGA, J. E.; JÚNIOR, M. A. W.; BARBOSA, B. F.; VOLP, A. C. P.; ZERDAS, E. R. M. A.; WÜRLITZER, N. J. Antimicrobial efficiency of film incorporated with pediocin (ALTA<sup>®</sup> 2351) on preservation of sliced ham. **Food Control**, Guildford, v. 20, n. 1, p. 85–89, 2009.

SANTO, E.; RODOLPHO, D.; MARIN, J. M. Presence of extraintestinal pathogenic *escherichia coli* in butcheries in taquaritinga, sp, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 38, n. 4, p. 591-593, 2007.

SANTOS, A. P. A. H. **Verificação da temperatura de carnes de aves congeladas no setor de recepção em um supermercado situado no município do Rio de Janeiro – RJ**. 2008. 31f. Monografia (Especialização em Higiene e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, 2008.

SANTOYO, S.; CAVERO, S.; JAIME, L.; IBAÑES, E.; SEÑORÁNS, F. J.; REGLERO, G. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 68, n. 4, p. 790-795, 2005.

SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; OLIVEIRA, L. M.; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R. M. V.; GARCIA, E. E. C. **Embalagens plásticas flexíveis: principais polímeros e avaliação de propriedades**. Campinas: CETEA/ITAL, 2002. 267 p.

SAS - Statistical Analysis System Institute. **SAS/QC: software usage and reference**. Version 6.0: SAS, 1996. 1 CD-ROM.

SASSI, J. F.; CHANZY, H. Ultrastructural aspects of the acetylation of cellulose, **Cellulose**, London, v. 2, n. 2, p. 111-127, 1995.

SCHMITT, M.; SCHULER-SCHMID, U.; SCHMIDT-LORENZ, W. Temperature limits of growth, TNase and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 11, n. 1, p. 1-19, 1990.

SEYDIM, A. C.; SARIKUS, G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. **Food Research International**, Barking, v. 39, n. 5, p. 639–644, 2006.

SILVA, E. N.; DUARTE, A. *Salmonella* Enteritidis em Aves: Retrospectiva no Brasil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 4, n. 2, p. 85-100, 2002.

SILVEIRA, M. F. A. **Filme antimicrobiano incorporado com ácido sórbico na conservação de massa de pastel**. 2005. 64f. Tese (*Doctor Scientiae* em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

SINGH, A.; SINGH, R. K.; BHUNIA, A. K.; SINGH, N. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, London, v. 36, n. 8, p. 787–794, 2003.

SKRÖKKI, A. Hygienic quality of commercial minced meat as indicated by aerobic microorganisms and Coliform bacteria. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A**, Berlin, v. 204, n. 5, p.391-394, 1997.

SMITH-PALMER, A.; STEWART, J.; FYFE, L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food borne-pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 118–122, 1998.

SOARES, N. F. F.; SILVA, W. A.; PIRES, A. C. S.; CAMILLOTO, G. P.; SILVA, P. S. Novos desenvolvimentos e aplicações em embalagens de alimentos. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n. 4, p. 370-378, 2009.

SOUSA, T. M. P.; CONCEIÇÃO, D. M. Atividade antibacteriana do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). **Ensaio e Ciência**, Campo Grande, v. 5, n. 5, p. 7-13, 2007.

SRINIVASA, P. C.; RAMESH, M. N.; THARANATHAN, R. N. Effect of plasticizers and fatty acids on mechanical and permeability characteristics of chitosan films. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 21, n. 7, p. 1113–1122, 2007.

STAMFORD, T. L. M.; SILVA, C. G. M.; MOTA, R. A.; CUNHA NETO, A. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus* spp. isolados de leite *in natura*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 41-45, 2006.

STECCHINI, M. L.; SARAIS, I; GIAVEDONI, P. Effect of essential oils on *Aeromonas hydrophila* in a culture medium and in cooked pork. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 56, p. 406-409, 1993.

SUNDHEIM, G.; SLETTEN, A.; DAINY, R. H., Identification of *Pseudomonads* from fresh and chill stored chicken carcasses. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 39, n. 3, p. 185–194, 1998.

SUPPALKU, P.; MILTZ, J., SONNEVELD, K., BIGGER, S. W. Antimicrobial properties of basil and its possible application in food packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 11, p. 3197–3207, 2003.

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

TEODORO, V. A. M.; PINTO, P. S. A.; VANETTI, M. C. D.; BEVILACQUA, P. D.; MORAES, M. P.; PINTO, M. S. Aplicação da técnica de PCR na detecção de *Yersinia enterocolitica* em suínos abatidos sem inspeção. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 1, p. 9-14, 2006.

TEWARI, R.; VIRMANI, O. P. Chemistry of rosemary oil: a review. **Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants**, Lucknow, v. 9, p. 185-197, 1987.

THARANATHAN, R. N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. **Trends in Food Science and Technology**, Cambridge, v. 14, n. 3, p. 71-78, 2003.

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**, Campinas, v. 29, n. 3, p. 542-545, 2009.

TSOLA, E.; DROSINOS, E. H.; ZOIPOULOS, P. Impact of poultry slaughter house modernisation and updating of food safety management systems on the microbiological quality and safety of products. **Food Control**, Guildford, v. 19, n. 4, p. 423-431, 2008.

TÜRE, H.; EROGLU, E.; SOYER, F.; ÖZEN, B. Antifungal activity of biopolymers containing natamycin and rosemary extract against *Aspergillus niger* and *Penicillium roquefortii*. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 43, n. 11, 2026–2032, 2009.

UHART, M.; MAKES, N.; RAVISHANKAR, S. Effect of spices on growth and survival of *Salmonella typhimurium* DT 104 in ground beef stored at 4 and 8°C. **Journal of Food Safety**, Westport, v. 26, n. 2, p. 115–125, 2006.

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Campinas, 2006. Disponível em: <[http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco\\_versao2.pdf](http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_versao2.pdf)>. Acesso em: 03 mai. 2010.

VAARA, M. Agents that increase the permeability of the outer membrane. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 56, n. 3, p. 395–411, 1992.

VASINAUSKIENE, M.; RADUSIENE, J.; ZITIKAITE, I.; SURVILIENE, E. Antibacterial activities of essential oils from aromatic and medicinal plants against growth of phytopathogenic bacteria. **Agronomy Research**, Saku, v. 4, p. 437-440, 2006. (Special Issue).

VENTURINI, K. S.; SARCINELLI, M. F.; SILVA, L. C. **Características da carne de frango**. Vitória: UFES, 2007. 7. p. (Boletim Técnico).

VERMEIREN, L.; DEVLIEGHIERE, F.; VAN BEEST, M.; KRUIJF, N.; DEBEVERE, J. Developments in the active packaging of foods. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 10, n. 3, p. 77-86, 1999.

VINCI, G.; ANTONELLI, M. L. Biogenic amines: quality index of freshness in red and white meat. **Food Control**, Guildford, v. 13, n. 8, p. 519–524, 2002.

VON HERTWIG, I. F. **Plantas aromáticas e medicinais**. 2. ed. São Paulo: Ícone, 1991. 415p.

VON RÜCKERT, D. A. S.; PINTO, P. S. A.; SANTOS, B. M.; MOREIRA, M. A. S.; RODRIGUES, A. C. A. Pontos críticos de controle de *Salmonella* spp. no abate de frangos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 61, n. 2, p. 326-330, 2009.

WENG, Y. M., CHEN, M. J. Sorbic anhydride as antimycotic additive in polyethylene food packaging films. **Food Science and Technology**, London, v. 30, n. 5, p. 485–487, 1997.

YANG, L.; PAULSON, A. T. Mechanical and water barriers properties of edible gellan film. **Food Research International**, Amsterdam, v. 33, n. 7, p. 563-570, 2000.

ZHANG, H.; KONG, B; XIONG, Y. L.; SUN, X. Antimicrobial activities of spice extracts against pathogenic and spoilage bacteria in modified atmosphere packaged fresh pork and vacuum packaged ham slices stored at 4° C. **Meat Science**, Barking, v. 81, n. 4, p. 686-692, 2009.

ZINOVIADOU, K. G.; KOUTSOUMANIS, K. P.; BILIADERIS, C. G. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. **Meat Science**, Barking, v. 82, n. 3, p. 338–345, 2009.

## ANEXOS

**ANEXO 1** – Certificado de análise do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) da empresa Petite Marie Química Fina LTDA.



## CERTIFICADO DE ANÁLISE

PRODUTO: 012119PM ROSMARINHO OLEO ESPECIAL  
 LOTE: 142009  
 FABRICAÇÃO: 07/10/2009  
 VALIDADE: 24 MESES

ENSAIO	MÉTODO	ESPECIFICAÇÃO	RESULTADO
600 - CQ ANÁLISE SENSORIAL	Cor	INCOLOR A LEV. AMAREL	OK
	Odor	CARACTERISTICO	OK
	Aspecto	LIQUIDO	OK
	Sabor	CARACTERISTICO	OK
606 - CQ ANÁLISE FÍSICA	Refracão	20 °C	1,462 - 1,472
	Densidade	g/cm <sup>3</sup>	0,920 - 0,940

<sup>1</sup> Desde que armazenado adequadamente em recipientes cheios e bem vedados.

Itaquaquecetuba, 29 de Outubro de 2009

Fernando Lajoie  
 C.R.Q. 004311060

PETITE MARIE QUÍMICA FINA LTDA. - R. do Cobalto, 325 - Corredor Industrial - Itaquaquecetuba - SP - Cep.: 08586-120 - Brasil<sup>1</sup> - Fone/Fax: (11) 4648-6688  
 Site: [www.petitmarie.com.br](http://www.petitmarie.com.br) - E-mail: [petitmarie@petitmarie.com.br](mailto:petitmarie@petitmarie.com.br)