

USO DE FILMES ATIVOS ANTIMICROBIANOS INCORPORADOS COM ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO (*Origanum vulgare* L.) NA CONSERVAÇÃO DE MASSA FRESCA

Lísia Maria de Freitas LÚCIO¹; Miriam Fontes Araújo SILVEIRA²; Robson Maia GERALDINE³; Katiuchia Pereira TAKEUCHI³; Maria Célia Lopes TORRES³; Celso José de MOURA³.

Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos
miriamfas.ufg@gmail.com

Palavras-chave: filme ativo, óleo essencial de orégano, massa fresca, efeito antimicrobiano.

1. INTRODUÇÃO

Hoje o mercado alimentício está cada vez mais recebendo consumidores que exigem produtos de alta qualidade e segurança e que se assemelham ao *in natura*, que estejam prontos para o consumo ou que sejam facilmente preparados, contendo menos conservante. Esses alimentos, quer sejam industrializados ou não, mantêm-se em constante atividade biológica, manifestada por alterações de natureza química, física, microbiológica ou enzimática, podendo levar à perda de qualidade e diminuição da vida de prateleira (SILVEIRA, 2005).

O controle das alterações não se dá somente com uma boa matéria-prima ou aplicação das boas práticas de fabricação, e sim em todo elo da cadeia produtiva, ressaltando o acondicionamento do produto em embalagens adequadas para proteger e conservar o alimento durante as fases de estocagem e comercialização (MORAES, 2007). Assim, existe uma demanda por novos métodos para reduzir ou eliminar microrganismos indesejáveis presentes nos alimentos, possivelmente, em combinação com outros já existentes, aplicando o princípio da tecnologia de barreira (LEISTNER, 1978).

O polímero de acetato de celulose é um composto biodegradável, amorfo, não tóxico, inodoro, estável em óleos minerais, permeável a vapor de água e, dependendo do grau de substituição, solúvel em acetona (OLIVEIRA, 2002). A 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). Esses filmes a base de acetato de celulose têm sido produzidos e utilizados em alimentos, visto que já se mostraram eficientes na tecnologia de embalagem ativa.

Segundo OLIVEIRA (2002), nos últimos anos, os pesquisadores se dedicaram ao

Trabalho revisado pelo Orientador.

¹Bolsista PIBIC- Estudante de Graduação em Engenharia de Alimentos.

² Orientadora - Professora do Setor de Tecnologia de Alimentos- Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos - UFG.

³ Professores do Setor de Tecnologia de Alimentos- Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos - UFG.

estudo de embalagens capazes não só de proteger, mas também de interagir com o produto. Assim surgiram as embalagens ativas, que são embalagens que exercem algum outro papel na preservação de alimentos, além o de promover uma barreira inerte a influências externas (ROONEY, 1995). Nestas embalagens podem ser incorporados aditivos ou outros compostos cuja função ativa pode ser de absorção de oxigênio, etileno, umidade, dióxido de carbono e/ou sabores/odores; antioxidante e agentes antimicrobianos (VERMEIREN *et al.*, 1999).

Dentre os antimicrobianos utilizados em filmes de acetato de celulose estão alguns óleos essenciais como alecrim, cravo, canela, orégano, noz-moscada, manjerição, dentre outros condimentos. 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 ocorra com maior intensidade onde se faz necessário (COMA, 2008).

Origanum vulgare L., conhecido como orégano, é um dos condimentos mais utilizados na culinária brasileira no preparo de carnes, ovos, peixes, panificação e frutos do mar. Estudos sobre o potencial antimicrobiano de especiarias mostram que o orégano apresenta resultados de destaque como agente hábil de inibição de bactérias e fungos contaminantes de alimentos (SOUZA *et al.*, 2005).

Um dos alimentos com grande potencial de utilização de filmes ativos antimicrobianos é a massa fresca, sendo muito consumida no Brasil e em diversos países. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2000), a massa alimentícia úmida ou fresca é o produto que pode ou não ser submetido a um processo de secagem parcial, de forma que o produto final apresente umidade máxima de 35% b.u. A contaminação dessas massas pode ser proveniente dos ingredientes utilizados na formulação, que incluem farinha de trigo, ovos, água, bem como dos equipamentos, do ambiente de processamento e dos manipuladores (MAYOU e MOBERG, 1992), caso não sejam observadas as Boas Práticas de Fabricação.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver filmes antimicrobianos de base celulósica incorporados com óleo essencial de orégano e avaliar sua eficiência antimicrobiana em massa de pastel, bem como suas propriedades mecânicas e ópticas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos laboratórios do Setor de Tecnologia de Alimentos da Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO. O óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.), de grau alimentício,

foi adquirido da empresa Petite Marie (Itaquaquecetuba – SP), o acetato de celulose da empresa Rhodia (Freiburg – Alemanha) e a massa de pastel de uma indústria localizada na cidade de Inhumas – GO.

2.1 Produção dos filmes ativos

Os filmes foram produzidos pelo método *casting*, segundo metodologia descrita por SOARES (1998), com algumas modificações. Flocos de acetato de celulose e acetona (10% p/v, acetato de celulose/acetona) foram colocados em frascos com tampa e submetidos à agitação mecânica em agitador de tubos (Phoenix, AP-22) à temperatura ambiente, até dissolução completa da resina. Diferentes concentrações de óleo essencial de orégano, 30 e 60 % em relação ao peso do acetato de celulose, foram adicionadas à mistura. Esta foi espalhada em placas de vidro e, após completa evaporação da acetona, os filmes foram removidos e estocados em temperatura ambiente para análises posteriores. Foram produzidos filmes controles sem a incorporação de óleo essencial.

A espessura de cada filme foi obtida pela média de medidas tomadas em três pontos dos filmes, ao acaso, utilizando micrômetro Instrutemp (0-25 mm).

2.2 Teste do halo

Para avaliação da eficiência antimicrobiana dos filmes *in vitro* realizou-se o teste do halo. Filmes controle e com 30 e 60% de óleo essencial de orégano, foram cortados com 1 cm de diâmetro e expostos à luz ultravioleta (UV) por 2 minutos em ambas as faces. Placas de petri com meio de cultura batata ágar dextrose (BDA) foram inoculadas com 0,1 mL de uma suspensão de fungos isolados da massa de pastel e os filmes foram colocados assepticamente sobre a superfície do meio de cultura. As placas foram incubadas a 25 °C, por 3 a 5 dias, e os halos avaliados para definição dos filmes que seriam testados em massa de pastel.

2.3 Eficiência antimicrobiana dos filmes ativos em massa de pastel

As massas de pastel foram produzidas sem conservante e conduzidas da indústria ao Laboratório de Embalagem em caixas de isopor, sob resfriamento, sendo cortadas com 10 cm de diâmetro. Filmes controle e com 60% de óleo essencial de orégano, previamente esterilizados com luz UV por 2 minutos em ambas as faces, foram intercalados nas massas de pastel, formando “sanduíches” (filmes/massas), com três repetições. Esses “sanduíches” foram acondicionados em sacos de polietileno de baixa densidade (PEBD) e estocados sob refrigeração ($7 \pm 1^\circ\text{C}$). As massas submetidas aos referidos tratamentos foram analisadas quanto à contagem de fungos filamentosos e leveduras, psicotróficos e coliformes totais e

fecais, nos tempos 0, 5, 10, 20 e 30 dias de estocagem, segundo metodologia de Vanderzant & Splittstoesser (1992), sugerida no Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos (SILVA, JUNQUEIRA e SILVEIRA, 1997).

2.4 Determinação da atividade de água e pH da massa

Durante a retirada dos “sanduíches” procedeu-se a determinação da atividade de água (a_w) no aparelho Aqualab-CX2T a $25 \pm 2^\circ\text{C}$. O pH foi determinado pelo método eletrométrico (pHmetro de bancada, marca HANNA Instruments, HI 9224) diluindo uniformemente 10g de amostra em 100ml de água a 25°C , segundo metodologia do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008).

2.5 Análise das Propriedades mecânicas dos filmes

Os filmes controle e com 60% de óleo essencial de orégano foram cortados em corpos de prova de 10 mm x 175 mm e condicionados à temperatura de $23^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $50\% \pm 10\%$, por 48h, em dessecador, contendo solução saturada de nitrato de cálcio (MEDEIROS, 2006) e mantido em B.O.D. (MA 415 – Marconi, Piracicaba, Brasil), de acordo com a norma D618-08 da American Society for Testing Materials (ASTM, 2008).

As propriedades de tensão máxima (MPa), módulo de elasticidade (Módulo de Young) (Mpa) e alongação (%) foram determinadas em texturômetro TA-XT Plus (Stable Micro System Texture Technologies, Godalming, Surrey, Inglaterra), com velocidade de 12,5 mm/min, distância entre garras de 150 mm e geometria Trigger Type, conforme a norma D882 - 09 (ASTM, 2009).

2.6 Análise de cor e opacidade dos filmes

Para avaliação da cor, os valores de L^* , a^* e b^* foram determinados em aparelho 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). O sistema operou com iluminante D65 e as aferições foram feitas nas peças. As análises foram feitas com três repetições, em triplicata.

2.7 Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado. Os resultados foram submetidos à análise de variância, com teste F, com auxílio do programa *Statistical Analysis System 6.0* (SAS,1996).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teste do halo

O filme controle não apresentou eficiência antimicrobiana *in vitro*. Quanto aos filmes com 30% e 60% de óleo essencial de orégano, o halo de inibição, após 4 dias a 25°C, foi maior no filme com 60% de óleo essencial, como mostrado na Figura 1. Tal fato pode ser explicado pela eficiência e migração lenta e constante dos agentes bactericidas e/ou bacteriostáticos do orégano para o meio, inativando, assim, os microrganismos ao redor do filme.

Baydar *et al.* (2004) analisando a efetividade antibacteriana do óleo essencial de orégano em diferentes concentrações (1/50, 1/100, 1/200, 1/300 v/v) sobre 15 bactérias envolvidas na deterioração e/ou como agentes causadores de doenças veiculadas por alimentos, observaram que na concentração de 1/50 (v/v) tal produto foi eficaz na inibição de todas as cepas bacterianas testadas. Assim, pode-se esperar o mesmo aplicando o orégano em filme, mas com menor eficiência, visto que Botre *et al.* (2010), realizando teste do halo com filmes ativos incorporados com óleo essencial de orégano, 25% e 50% (v/p), observaram ação inibitória, *in vitro*, sobre *Penicillium* spp. e *S. aureus*, do filme com maior concentração de óleo, apresentando maior halo.

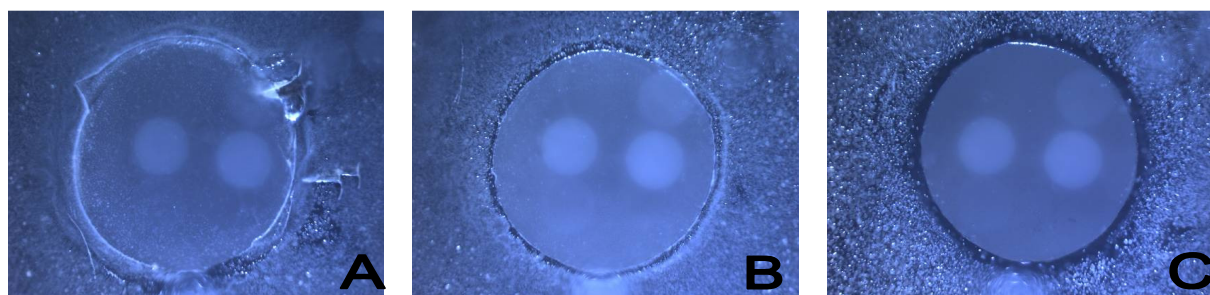


Figura 1- Teste do halo para fungos isolados da massa de pastel. (A) filme controle; (B) filme com 30% de óleo essencial de orégano; (C) filme com 60% de óleo essencial de orégano.

Eficiência antimicrobiana dos filmes ativos em massa de pastel

Observou-se, visualmente, o aparecimento de fungos nas massas de pastel intercaladas com filme controle a partir do 16º dia de estocagem. As massas com filme ativo (60% de óleo essencial de orégano) permaneceram sem crescimento aparente de fungos até o final do experimento.

As contagens de fungos filamentosos e leveduras, psicrotróficos e coliformes a 35°C na massa de pastel durante o tempo de estocagem estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1- Análise microbiológica de massas de pastel intercaladas com filmes controle e filmes com 60% de óleo essencial de orégano nos tempos 0, 5, 10, 20 e 30 dias de estocagem sob refrigeração ($7 \pm 1^\circ\text{C}$).

Microrganismo	Tratamento (filme)	Tempo (dias)				
		0	5	10	20	30
Fungos filamentosos e leveduras (UFC.g ⁻¹)	Controle	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	$4,0 \times 10^4$	$7,4 \times 10^5$
	Ativo (60%)	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$
Psicrotróficos (UFC.g ⁻¹)	Controle	$< 1,0 \times 10^2$	$4,3 \times 10^3$	$6,8 \times 10^5$	$8,46 \times 10^6$	$> 2,5 \times 10^6$
	Ativo (60%)	$< 1,0 \times 10^2$	$< 1,0 \times 10^2$	$1,54 \times 10^5$	$7,97 \times 10^5$	$2,3 \times 10^6$
Coliformes a 35 °C (NMP.g ⁻¹)	Controle	$< 3,0 \times 10^0$	$< 3,0 \times 10^0$	$< 3,0 \times 10^0$	$2,3 \times 10^1$	$6,4 \times 10^1$
	Ativo (60%)	$< 3,0 \times 10^0$	$< 3,0 \times 10^0$	$< 3,0 \times 10^0$	$2,3 \times 10^1$	$2,3 \times 10^1$

A contagem de fungos filamentosos e leveduras até o 5º dia de estocagem permaneceu, praticamente, a mesma para os dois tratamentos. Entretanto, no 10º, 20º e 30º dia de estocagem, observou-se que a contagem desses microrganismos na massa intercalada com filme ativo foi, aproximadamente, 1, 2 e 2 ciclos log abaixo da determinada para a massa com filme controle, respectivamente. Isso mostra a efetividade do óleo essencial de orégano sobre esses microrganismos. Botre *et al.* (2010), trabalhando com filmes ativos com 25 e 50% de óleo essencial de orégano aplicado em massa de pizza, não observaram crescimento de fungos filamentosos, apenas leveduras, até os 15 dias de estocagem do produto.

Os resultados mostraram que, aos 30 dias de estocagem, a contagem de psicrotróficos nas massas de ambos os tratamentos apresentou aumento de 4 ciclos log em relação ao tempo inicial. SILVEIRA (2005) observou que a contagem de psicrotróficos aumentou cerca de 1 ciclo log na massa de pastel com ácido sórbico, e que houve uma redução de 1,5 ciclo log na contagem desses microrganismos nas massas intercaladas com filmes de 70µm/3% de ácido sórbico, porém, nas massas intercaladas com filmes de 25µm/7% de ácido sórbico não houve diferença significativa em relação ao controle.

As contagens de coliformes a 35°C nas massas de ambos os tratamentos foram $< 3,0 \times 10^0$ NMP.g⁻¹, até 10 dias de estocagem, porém a partir do 20º dia houve um aumento de 1 ciclo log. Quanto aos coliformes a 45°C, independente do tratamento, as massas de pastel apresentaram contagens $< 3,0 \times 10^0$ NMP.g⁻¹, durante todo o período de estocagem, mostrando a importância dos cuidados higiênicos durante a fabricação das massas.

Os dados obtidos relacionam com o que QUATTARA *et al.* (2000) relatam, que o emprego de filmes antimicrobianos pode ser mais eficiente do que o uso direto de antimicrobianos no alimento, pois o antimicrobiano migra lenta e gradualmente da embalagem para a superfície do alimento, onde mantém em concentração necessária para inibir o desenvolvimento de microrganismos. Na maioria dos alimentos frescos ou processados, a contaminação microbiana ocorre, em maior intensidade, na superfície dos mesmos, requerendo assim um controle efetivo do crescimento microbiano neste local (PADGETT *et al.*, 1998).

Determinação da atividade de água e pH da massa

Os efeitos dos tratamentos, dos tempos de estocagem e da interação entre eles não foram significativos ($p > 0,05$) para atividade de água e pH das massas (Figura 2). Observou-se que a atividade de água foi, aproximadamente, 0,95 e o pH 5,0. SILVEIRA (2005), trabalhando com filme ativo incorporado com ácido sórbico aplicado na massa de pastel, também não encontrou diferença significativa para atividade de água, durante o tempo de estocagem do produto.

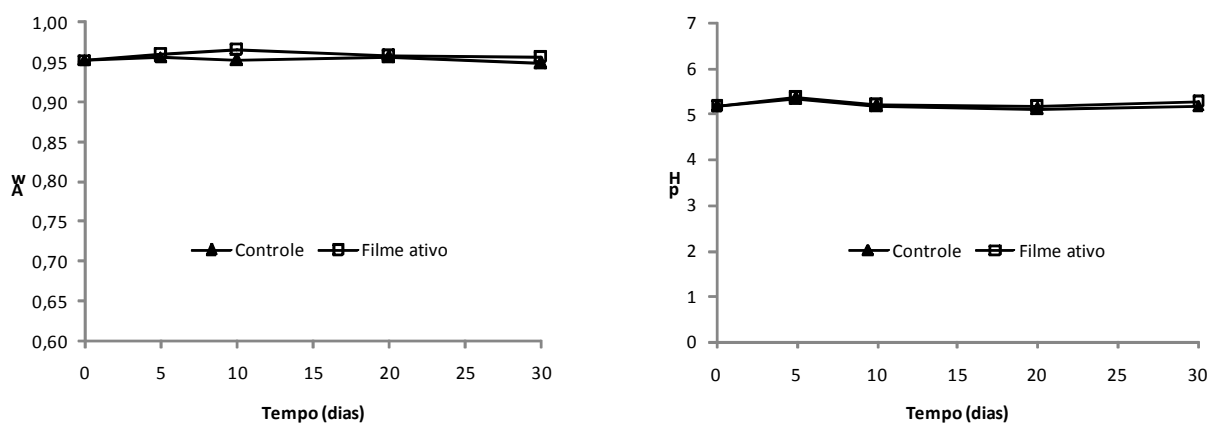


Figura 2. Atividade de água (A_w) e pH das massas de pastel, nos tempos 0, 5, 10, 20 e 30 dias de estocagem sob refrigeração ($7 \pm 1^\circ\text{C}$).

Propriedades mecânicas dos filmes

Segundo Oliveira *et al.* (1996), os materiais plásticos diferem entre si quanto à resposta à deformação por tração, apresentando diferentes comportamentos.

Os filmes controle e com 60% de óleo essencial de orégano apresentaram espessuras de $27,5 \pm 5 \mu\text{m}$. Na Tabela 2 estão apresentados os resultados de tensão máxima, módulo de elasticidade (Módulo de Young) e alongação dos filmes.

Tabela 2. Tensão máxima(MPa), Módulo de Young (MPa) e alongação (%) dos filmes controle e com 60% de óleo essencial de orégano.

Propriedades	Filme controle	Filme ativo (60%)
Tensão máxima (MPa)	5514,90 ± 701,85 b	3124,92 ± 312,36 a
Módulo de Young (MPa)	4,78 ± 0,72 b	3,37 ± 0,43 a
Elongação (%)	0,55 ± 0,20 a	1,07 ± 0,36 b

Nas linhas, médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F ($p > 0,05$).

A incorporação de óleo essencial de orégano 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 à tração, visto que a tensão máxima diminuiu em relação ao tratamento controle. O módulo de elasticidade (Módulo de Young), rigidez dos filmes, também variou significativamente ($p \leq 0,05$). O filme com 60% de óleo essencial apresentou valores menores que o controle, sendo caracterizado como um filme de menor rigidez. Quanto à alongação, que mostra a capacidade do filme esticar antes de romper, os resultados mostraram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os tratamentos. MELO (2010), trabalhando com filmes ativos incorporados com 10, 20, 30, 40 e 50% de óleo essencial de alecrim, encontrou resultados semelhantes para a tensão máxima e módulo de elasticidade, que variaram significativamente, porém, alongação não apresentou diferença significativa.

Análise de cor e opacidade dos filmes

Observou-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os parâmetros de cor avaliados (Tabela 3). Os filmes ativos apresentaram maior opacidade, sendo o filme controle mais transparente. LIPORACCI (2005) relatou que alguns fatores podem influenciar o grau de opacidade dos filmes como: teor de amilose, cinzas do amido utilizado, concentração de lipídios, entre outros. Assim, provavelmente, a diferença entre os tratamentos se deu pela presença de lipídios, devido a incorporação do óleo essencial.

Tabela 3. Cor e opacidade dos filmes controle e com 60% de óleo essencial de orégano.

Tratamento	Cor				Opacidade (Y)
	L	a*	b*	DE*	
Filme Controle	93,54 ± 0,21 b	-0,88 ± 0,03 b	0,58 ± 0,02 a	0,65 ± 0,21 a	12,85 ± 0,31 a
Filme Ativo (60%)	92,51 ± 0,31 a	-1,22 ± 0,08 a	2,83 ± 0,76 b	2,90 ± 0,79 b	20,48 ± 2,55 b

Nas colunas, médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F ($p > 0,05$).

Os parâmetros de cor, L e a*, foram menores no filme ativo e o parâmetro b* maior, indicando tendência de avermelhamento desses filmes pela adição do óleo essencial de orégano.

4. CONCLUSÃO

O filme incorporado com 60% de óleo essencial de orégano apresentou maior atividade antimicrobiana *in vitro* em relação aos outros filmes testados e foi eficiente no controle de fungos filamentosos e leveduras em massa de pastel.

Os valores de pH e atividade de água da massa não foram afetados significativamente pelo uso do filme ativo, mostrando uma possível substituição do polietileno de baixa densidade e conservantes utilizados no produto comercial.

As propriedades mecânicas e ópticas do filme ativo apresentaram diferença significativa em relação ao filme controle.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES e ao CNPq, pelos recursos financeiros concedidos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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 plastics sheeting – D882-09**. Pennsylvania, 2009.

BAYDAR, H.; SAGDIÇ, O.; OZKAN, G.; KARADOGAN, T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. **Food Control**. 15: 169-172, 2004.

BOTRE, D. A.; SOARES, N. F. F.; ESPITIA, P. J. P.; SOUSA, S.; RENHE, I. R. T. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n.3, p. 283-291, mai/jun, 2010.

BRASIL. Resolução nº 93, de 31 de outubro de 2000. Diário Oficial da União. 2000.

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 HRMN. **Polímeros**, São Carlos, v. 20, n. 2, p. 85-91, 2010.

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

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos, 4. ed. São Paulo: IMESP, 2008. p. 103.

LEISTNER, L. Hurdle effect and energy saving. In: Downey, W.K. (Eds.) **Food Quality and Nutrition**. London, Applied Science Publishers. p.553.1978.

LIPORACCI, J. S. N.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeito do método de extração na composição e propriedades de amido de inhame (*Dioscorea alata*). **Semina. Ciências Agrárias**, v. 26, n. 3, p. 345-352, 2005.

MAYOU, J.; MOBERG, L. **Cereal and cereal products**. In. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. (ed). 3ª ed. Washington DC. American Public Health Association. p.995-1006, 1992.

MEDEIROS, A. C. S. Preparo e uso de soluções salinas saturadas para a caracterização fisiológica de sementes florestais. **Embrapa Circular Técnica 125**, 1ª ed., p. 2, 2006.

MELO, A. A. M. **Efeito de filme ativo incorporado com óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) na conservação de carne de frango**. Goiânia-GO: UFG, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, 2010.

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. **Rev. Ceres**, Viçosa, v. 57, n.3, p. 283-291, mai/jun, 2007.

OLIVEIRA, L. M.; ALVES, R. M. V.; SARANTÓPOLUS, C. I. G. L.; PADULA M.; GARCIA, E. E. C.; COLTRO, L. Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis. Centro de Tecnologia de Embalagem (CETEA). Campinas, Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL). p.120-121. 1996.

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 organossiliano**. 2002, 91f. Dissertação (Mestrado em Química – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

PADGETT, T.; HAN, I.Y.; DAWSON, P.L. Incorporation of food-grade antimicrobial compounds into biodegradable packaging films. **Journal of Food Protection**, v.61, n.10, p.1330-1335, 1998.

PUC-RIO – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Polímeros: introdução e conceitos fundamentais, 2010. Disponível em: <http://www2.dbd.puc-pucriobr/pergamum/tesesabertas/0312428_05_cap_02.pdf>. Acesso em: 02 jun 2011.

QUATTARA, B.; SIMARD, R. E.; PIETTE, G.; BÉGIN, A.; HOLLEY, R.A. Diffusion of acetic and propionic acids from chitosan-based antimicrobial packaging films. **Journal of Food Science**, v.65, n.5, p.768-773, 2000.

ROONEY, M. L. Active packaging in polymer films. In: ROONEY, M. L. **Active food packaging**. Glasgow: Chapman & Hall, 1995. p. 74-110.

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

SILVA, N.; JUNQUEIRA, C.A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. Livraria Varela, São Paulo. 1ª ed. , 1997. 245p.

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

SOARES, N. F. F. **Bitterness reduction in citrus juice through naringinase immobilized into polymer film**. Cornell University, NY, 1998. 130p. (Ph. D. Dissertation).

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N.; FILHO, J. M. B. Orégano (*Origanum vulgare* L., Lamiaceae): Uma especiaria como potencial fonte de compostos antimicrobianos. **Revista Higiene Alimentar**, v. 19, n.132, p.40-45, 2005.

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.