



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

ALLISON FERREIRA DE LIMA

**REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS A BASE DE QUITOSANA E EXTRATO DE  
ALECRIM (*Rosmarinus officinalis L.*) E SUA APLICABILIDADE NA CARNE  
BOVINA**

MOSSORÓ

2019

ALLISON FERREIRA DE LIMA

**REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS A BASE DE QUITOSANA E EXTRATO DE  
ALECRIM (*Rosmarinus officinalis L.*) E SUA APLICABILIDADE NA CARNE  
BOVINA**

Dissertação apresentada ao Mestrado em  
Ciência Animal do Programa de Pós-  
Graduação em Ciência Animal da Universidade  
Federal Rural do Semi-Árido como requisito  
para obtenção do título de Mestre em Ciência  
Animal.

Linha de Pesquisa: Produção e Conservação  
Animal no Semiárido

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dra. Patrícia de Oliveira  
Lima

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo Henrique de  
Lima Leite

MOSSORÓ

2019

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

L732r Lima, Allison Ferreira de.  
Revestimentos comestíveis a base de quitosana e extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e sua aplicabilidade na carne bovina / Allison Ferreira de Lima. - 2019.  
54 f. : il.

Orientadora: Patrícia de Oliveira Lima.  
Coorientador: Ricardo Henrique de Lima Leite.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, 2019.

1. Cobertura. 2. Conservação. 3. Qualidade da carne. 4. Tecnologia de alimentos. 5. Vida útil.  
I. Lima, Patrícia de Oliveira, orient. II. Leite, Ricardo Henrique de Lima, co-orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

ALLISON FERREIRA DE LIMA

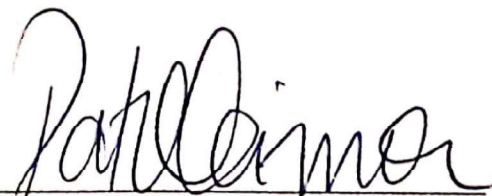
**REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS A BASE DE QUITOSANA E EXTRATO DE  
ALECRIM (*Rosmarinus officinalis L.*) E SUA APLICABILIDADE NA CARNE  
BOVINA**

Dissertação apresentada ao Mestrado em  
Ciência Animal do Programa de Pós-  
Graduação em Ciência Animal da Universidade  
Federal Rural do Semi-Árido como requisito  
para obtenção do título de Mestre em Ciência  
Animal.

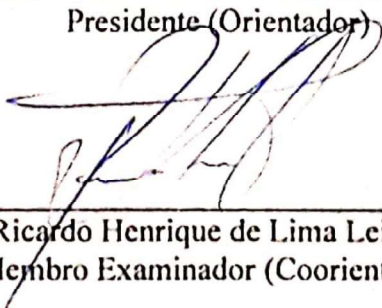
Linha de Pesquisa: Produção e Conservação  
Animal no Semiárido.

Defendida em: 22 / 02 / 2019.

**BANCA EXAMINADORA**



Prof. Dra. Patrícia de Oliveira Lima (UFERSA)  
Presidente (Orientador)



Prof. Dr. Ricardo Henrique de Lima Leite (UFERSA)  
Membro Examinador (Coorientador)



Prof. Dra. Maria Rociene Abrantes (UFERSA)  
Membro Examinador

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**ALLISON FERREIRA DE LIMA**, filho de José Agnaldo Ferreira de Lima e Ilma Maria Santos de Lima, nasceu em 04 de julho de 1989, na cidade de Natal, estado do Rio Grande do Norte. Concluiu o ensino médio na Escola Estadual Desembargador Floriano Cavalcante, em Natal, no ano de 2006. Em 2010 iniciou o ensino superior no curso de Bacharelado em Zootecnia, na Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), concluindo-o em dezembro de 2016. Como acadêmico, foi bolsista de Iniciação Científica/PIVIC entre os anos de 2013 a 2016. Na extensão, participou de projetos como o PROEXT/2013 - Capacitação de jovens: manutenção do homem no campo e do PROEXT/2012 - Capacitação Tecnológica em Pequenas Propriedades de Bacias Leiteiras do Rio Grande do Norte. Foi bolsista permanência acadêmica (2014 a 2015), onde realizou atividades relacionadas a avaliações da qualidade de diferentes tipos de carnes e seus derivados no Laboratório de Análises Instrumentais (LANIS). Realizou estágios em estabelecimentos ligados a produção animal, como no Aquário Natal (2011), Fazenda Flor da Serra (2012 a 2015) e na Carcinicultura Aquavivah (2015). Atuou como integrante do grupo de pesquisa, ensino e transferência de tecnologia com ruminantes - PETRUS/UFERSA. Em 2017 ingressou no curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, da UFERSA, no qual foi bolsista CAPES, desenvolvendo durante esse período, estudos relacionados a qualidade da carne bovina.

## AGRADECIMENTOS

Refletir sobre o caminho percorrido, é a melhor forma de agradecer a tantas pessoas que caminharam junto comigo ao longo desses dois anos de Pós-Graduação. Nesse momento tenho poucas certezas, mas uma delas é a de que cheguei aqui por não estar sozinho.

Agradeço primeiramente a Deus por sempre me guiar nesta caminhada, me concedendo coragem e força para perseverar em momentos difíceis.

A minha base familiar, meus pais - José Agnaldo e Ilma Maria - ao meu irmão (Allyf) e meus tão amados sobrinhos (Allyf Júnior e Yan Gabriel) por serem tão fundamentais em minha vida, em todos os aspectos, com ressalta a minha mãe, que sempre acreditou em mim e, é a minha maior incentivadora na busca pelos meus ideais, principalmente no que se refere aos estudos.

A todos meus familiares, em especial aqueles que sempre se fizeram tão presentes em minha vida e me dedicam tanto carinho (minhas tias Ione e Vilma, meus primos “Valtinho” e Isabele Andressa, além da minha cunhada Beatriz).

Aos amigos de longa data: Carmem Sara, Diego Maradona e João Paulo. Aos que conheci durante essa trajetória acadêmica: Elaine Cristine, Otoniel, Elanne, Érica, Hélia, Maria Vivianne, Ana Paula, Jessica Taiomara, Khelven Klay, Maria Carla, Lucas de Oliveira e Odonil, cada um à sua forma, foram importantes.

A elas que foram únicas e indispensáveis desde o princípio e, não foi diferente nesse momento: Firme (Salenilda Soares), Lopes (Maria Raquel), Uri Vanille e Kalliane Allessandra. Ao meu coorientador Prof. Dr. Ricardo Henrique de Lima Leite e a Profa. Dra Maria Rociene Abrantes pela disponibilidade e colaboração.

Enfim, todos meus mestres e, em especial a orientadora de toda a graduação e do mestrado, Profa. Dra. Patrícia de Oliveira Lima, o meu muito obrigado por toda consideração que a senhora sempre teve por mim ao longo de todos esses anos de trabalho.

Agradeço também a Universidade Federal Rural do Semi-Árido, minha segunda casa, responsável pelo meu amadurecimento e formação profissional.

A CAPES pelo apoio financeiro.

## REVESTIMENTOS COMESTÍVEIS A BASE DE QUITOSANA E EXTRATO DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis L.*) E SUA APLICABILIDADE NA CARNE BOVINA

LIMA, A.F. Revestimentos comestíveis a base de quitosana e extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) e sua aplicabilidade na carne bovina, 2019. 55f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal Rural do Semiárido (UFERSA), Mossoró-RN, 2019.

**RESUMO:** O objetivo da pesquisa foi elaborar e avaliar revestimentos comestíveis a base de quitosana e extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) e sua aplicabilidade na carne bovina. A princípio o estudo contou com a preparação dos extratos de alecrim nas concentrações de 4% e 8%, além do preparo da mistura polimérica e, conseqüente imersão da carne nesse conteúdo e em água destilada (controle) para as análises: físicas (pH, cor, capacidade de retenção de água, perda de peso na cocção e força de cisalhamento), microbiológicas (coliformes a 45°C e o tempo de prateleira de mesófilos, psicrotróficos, *Staphylococcus ssp.* e detecção de *Salmonella spp.*) e atividade antioxidante (TBARS). Avaliou-se as propriedades mecânicas, permeabilidade ao vapor de água (PVA), cor, transparência, solubilidade e absorção de umidade dos filmes. Os resultados das análises físicas, demonstram que houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) entre os tipos de revestimentos e tempo de prateleira para pH e todos os parâmetros de cor estudados (L, a\* e b\*). A capacidade de retenção de água mais elevada, ocorreu na concentração de 8% do extrato. Entre os tratamentos na perda de peso na cocção, relacionado esses resultados as misturas poliméricas. A força de cisalhamento também apresentou diferença entre os tratamentos e os tempos, todas as amostras tiveram uma diminuição na força de cisalhamento ao longo do tempo. Nas análises microbiológicas, verificou-se a conformidade da ausência de *Salmonella spp.* em 25g de amostra. Quanto a coliformes a 45° C, foram encontrados valores de 1100 NMP/ g tanto nas amostras tratadas, como no controle no tempo 0 (único dia de avaliação). A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) nos revestimentos onde havia a inclusão dos extratos de alecrim, dos demais tratamentos, apresentando uma tendência de redução desses microrganismos, assim como nos microrganismos psicrotróficos. Observou-se ação imediata dos revestimentos contra a propagação de *Staphylococcus spp.*, onde as amostras não apresentaram diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos a partir do dia 2. Os revestimentos onde havia a inclusão dos extratos de alecrim, demonstraram capacidade antioxidante significativa entre os tratamentos e ao longo dos tempos de avaliação. Concernente aos filmes, observou-se variação da espessura, entretanto, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre esses valores. Tratando-se da solubilidade, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. A absorção de umidade variou significativamente ( $p < 0,05$ ) entre o tratamento controle e os tratados com os extratos. Na avaliação de PVA, há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos controle e com 8% de extrato, 0,41 e 0,70 g.mm/h.m<sup>2</sup>.kPa, respectivamente, evitando o processo de deterioração em alimentos. Em relação aos testes mecânicos, o controle, requer menor tensão que as amostras com extratos, para sofrer a deformação, no entanto, não há diferença estatística ( $p > 0,05$ ). Com relação à força necessária para romper o corpo de prova, observou-se que o filme controle, apresenta-se mais resistente que os filmes com extratos, apresentando diferença estatística ( $p < 0,05$ ). Assim, conclui-se que os revestimentos à base de quitosana e extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*), apresentaram influência na conservação e qualidade da carne bovina refrigerada, sendo o revestimento com menor concentração do extrato (4%) o mais indicado, pois possui o menor custo de produção, mantendo a carne o mais próximo do natural.

**Palavras-chave:** cobertura, conservação, qualidade da carne, tecnologia de alimentos, vida útil.

## **EDIBLE COATINGS BASED ON CHITOSAN AND ALECRIM EXTRACT (*Rosmarinus officinalis* L.) AND ITS APPLICABILITY IN BOVINE MEAT**

LIMA, A.F. Edible coatings based on chitosan and rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L.) and their applicability on beef, 2019. 55f. Dissertation (Master's Degree in Animal Science) - Federal Rural Semiarid University (UFERSA), Mossoró-RN, 2019.

**ABSTRACT:** The objective of the research was to elaborate and evaluate edible coatings based on chitosan and rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L.) and its applicability on beef. At the beginning, the preparation of rosemary extracts at concentrations of 4% and 8%, as well as preparation of the polymer mixture and consequent immersion of the meat in this content and in distilled water (control) for the physical analyzes (pH, (coliforms at 45 ° C and the shelf life of mesophiles, psychrotrophs, *Staphylococcus* ssp. and detection of *Salmonella* spp.) and antioxidant activity (TBARS). The mechanical properties, water vapor permeability (PVA), color, transparency, solubility and moisture absorption of the films were evaluated. The results of the physical analyzes show that there was a significant effect ( $p < 0.05$ ) between coatings types and shelf life for pH and all color parameters studied (L, a \* and b \*). The highest water retention capacity occurred at the concentration of 8% of the extract. Among the treatments on weight loss in cooking, these results relate to polymer blends. The shear force also showed a difference between the treatments and the times, all the samples had a decrease in the shear force over time. In the microbiological analyzes, the absence of *Salmonella* spp. in 25 g of sample. As for coliforms at 45° C, values of 1100 NMP / g were found both in the treated samples and in the control at time 0 (single evaluation day). The count of aerobic mesophilic microorganisms differed significantly ( $p < 0.05$ ) in the coatings where the rosemary extracts were included in the other treatments, showing a tendency to reduce these microorganisms, as well as in psychrotrophic microorganisms. It was observed immediate action of the coatings against the propagation of *Staphylococcus* spp., Where the samples did not present statistical difference ( $p > 0.05$ ) between the treatments from day 2. The coatings where there was the inclusion of rosemary extracts, demonstrated significant antioxidant capacity between treatments and over the evaluation times. Concerning the films, thickness variation was observed, however, there was no significant difference ( $p > 0.05$ ) between these values. As for solubility, there was no significant difference ( $p > 0.05$ ) between treatments. The moisture absorption varied significantly ( $p < 0.05$ ) between the control treatment and those treated with the extracts. In the PVA evaluation, there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) between the control treatments and with 8% of extract, 0.41 and 0.70 g.mm/h.m<sup>2</sup>.kPa, respectively, avoiding the deterioration process in food. In relation to the mechanical tests, the control requires less tension than the samples with extracts, to undergo deformation, however, there is no statistical difference ( $p > 0.05$ ). Regarding the force required to break the test specimen, it was observed that the control film is more resistant than films with extracts, presenting a statistical difference ( $p < 0.05$ ). Thus, it was concluded that the coatings based on chitosan and rosemary extract (*Rosmarinus officinalis* L.) had an influence on the conservation and quality of refrigerated beef, and the coating with the lowest extract concentration (4%) was the most indicated, because it has the lowest cost of production, keeping the meat as close to the natural one.

**Key-words:** conservation, food technology, meat quality, roof, shelf life.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Superfície dos filmes a base de quitosana (A e B), quitosana e 4% de extrato de alecrim (C e D) e quitosana e 8% de extrato de alecrim (E e F) submetidos a microscopia eletrônica de varredura (MEV). .....	33
--	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das matrizes filmogênicas.....	24
Tabela 2. Avaliação dos filmes à base de quitosana e extrato de alecrim: espessura, solubilidade, transparência, absorção de umidade e permeabilidade ao vapor de água. ....	30
Tabela 3. Avaliação dos filmes à base de quitosana e extrato de alecrim: transparência e em seus parâmetros de cor.....	31
Tabela 4. Avaliação das propriedades mecânicas dos filmes à base de quitosana e extrato de alecrim. ....	32
Tabela 5. Avaliação do pH da carne bovina <i>in natura</i> , submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis. ....	35
Tabela 6. Parâmetros da cor avaliados na carne bovina <i>in natura</i> , submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis. ....	36
Tabela 7. Capacidade de retenção de água da carne bovina <i>in natura</i> , submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis. ....	38
Tabela 8. Avaliação da perda de peso na cocção (PPC) da carne bovina <i>in natura</i> , submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis. ....	39
Tabela 9. Avaliação da força de cisalhamento (FC) da carne bovina <i>in natura</i> , submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis.....	40
Tabela 10. Atividade antioxidante da carne bovina <i>in natura</i> , submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis. ....	40
Tabela 11. Contagem microbiológica da carne bovina <i>in natura</i> , submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis. ....	42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% ABS - Percentual de absorção de umidade do filme

a\* - vermelho

A4% - revestimento com inclusão de 4% de extrato de alecrim

A8% - revestimento com inclusão de 8% de extrato de alecrim (A8%).

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

b\* - amarelo

CO - Água destilada, controle

CQ - revestimento controle quitosana

CRA – Capacidade de Retenção de Água

E – Elongação

FC – Força de Cisalhamento

FDA - Food and Drugs Administration

g – gramas

h – horas

HCl – Ácido Clorídrico

L\* - Luminosidade

LANIS – Laboratório de Análises Instrumentais e Sensoriais

LIPOA- Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal

LPC – Laboratório de Pós Colheita

LPQ – Laboratório de Processos Químicos

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

Mf - Massa final das amostras

Mi - Massa inicial das amostras

mm – milímetros

MS - Matéria solúvel em água

m<sub>Sfinal</sub> - Massa seca final

m<sub>Sinicial</sub> - Massa seca inicial

NaCl – Cloreto de Sódio

NMP/g – Número Mais Provável Por Grama

pH – Potencial Hidrogeniônico

PP - Polipropileno

PPC – Perda de Peso pós Cocção

PVA – Permeabilidade ao Vapor de Água

RIISPOA - Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

RPM – Rotação por minuto

SISVAR – Sistema computacional de análise estatística

TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico

TR – Tensão de Ruptura

UFC/g – Unidade Formadora de Colônia por grama

UFERSA – Universidade Federal Rural do Semiárido

## LISTA DE SÍMBOLOS

% Porcentagem

°C Graus Celsius

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	17
2.1 Objetivo geral .....	17
2.2 Objetivos específicos.....	17
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	18
3.1 Revestimentos e filmes.....	18
3.2 Quitosana: matéria-prima utilizada para produção de revestimentos e filmes.....	19
3.3 Alecrim ( <i>Rosmarinus officinalis L</i> ): aditivo natural.....	20
3.4 Qualidade da carne bovina .....	21
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	23
4.1 Preparação do extrato .....	23
4.2 Preparação do revestimento.....	23
4.3 Aplicação dos revestimentos em carne bovina.....	24
4.4 Caracterização do revestimento.....	24
4.5 Análises físico-químicas.....	26
4.5.1 pH .....	26
4.5.2 Cor .....	27
4.5.3 Capacidade de retenção de água – CRA.....	27
4.5.4 Perda de peso por cocção – PPC .....	27
4.5.5 Força de Cisalhamento - FC .....	27
4.6 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).....	28
4.7 Análises microbiológicas.....	28
4.8 Análises estatísticas .....	28
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	29
5.1 Caracterização dos filmes.....	29
5.2 Análises físico-químicas.....	34
5.2.1 pH .....	34
5.2.2 Cor .....	35
5.2.3 Capacidade de retenção de água - CRA .....	37
5.2.4 Perda de peso na cocção - PPC.....	38
5.2.5 Força de cisalhamento – FC .....	39
5.3 Atividade antioxidante.....	40
5.1 Análises microbiológicas.....	41
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	45
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	46

## 1 INTRODUÇÃO

Embalagens ativas podem inibir ou retardar a microbiota e as reações na superfície dos alimentos, onde normalmente se inicia a deterioração (DEVLIEGHERE; VERMEIREN; DEBEVERE, 2004). Estas têm um grande potencial na indústria alimentícia para aumentar a vida de prateleira e a segurança dos alimentos, entre essas, encontram-se os filmes à base de quitosana, que têm-se demonstrado eficazes na conservação de diversos alimentos (CERQUEIRA et al., 2011; CIA et al., 2010).

A quitosana é um aminopolissacarídeo obtido da desacetilação da quitina sendo um dos mais abundantes polímeros naturais nos organismos vivos tais como crustáceos, insetos e fungos. É uma fibra animal, que tem sido comprovada como não tóxica e biodegradável (GUERRA-SANCHÉZ et al., 2009).

A aplicação de quitosana justifica-se pelo baixo custo de produção, a qual é produzida a partir dos descartes do processamento de crustáceos, fonte bastante abundante, sendo as características dos produtos a base de quitosana dependentes da origem da matéria prima e da metodologia empregada para sua produção (OLIVEIRA; NUNES, 2011).

Nesse contexto, percebe-se que avanços recentes têm-se centrado na inclusão de compostos químicos nas embalagens que melhoram as propriedades dos filmes de quitosana (DUTTA; TRIPATHI; DUTTA, 2011; CUNHA; GANDINI, 2010). Entretanto, outra possibilidade de aplicação em embalagens é através da incorporação de aditivos antioxidantes naturais, ampliando seu campo de utilização (SANTANA et al., 2013).

Assim, surge o interesse no extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*), devido às suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e medicinais (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007).

Portanto, atrasar a oxidação lipídica e prevenir o crescimento bacteriano são fatores que podem ter uma contribuição significativa para a extensão da vida de prateleira (GEORGANTELIS et al., 2007). Isso pode ser observado na indústria da carne que procura manter a qualidade primária da carne durante o processamento e armazenamento, mas, em alguns casos, o aumento da vida proporcionado pelo resfriamento pode ser insuficiente. A oxidação lipídica possivelmente gerará características organolépticas indesejáveis, enquanto o crescimento microbiano pode causar tanto deterioração quanto doenças transmitidas por alimentos.

Além disso, o aumento da demanda de carne faz com que as indústrias do mundo inteiro invistam, cada vez mais, em tecnologias capazes de agregar valor aos produtos. A industrialização é a principal alternativa para o escoamento da matéria prima, além de proporcionar um aumento na vida útil dos produtos (TROY e KERRY, 2010).

Diante do exposto da presente pesquisa, objetivou-se elaborar e avaliar o potencial dos revestimentos comestíveis a base de quitosana e extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) e sua aplicabilidade na carne bovina.



## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Elaborar e avaliar o potencial de revestimentos comestíveis a base de quitosana e extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) e sua aplicabilidade na carne bovina.

### 2.2 Objetivos específicos

- a) Obter e caracterizar os revestimentos comestíveis a base de quitosana e diferentes concentrações de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*);
- b) Testar a influência dos revestimentos com extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) e quitosana na conservação e qualidade da carne bovina refrigerada;
- c) Testar os diferentes níveis de adição de extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) como conservante natural;
- d) Avaliar a influência dos revestimentos com e sem extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) na vida de prateleira da carne bovina.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Revestimentos e filmes

Os revestimentos e filmes são termos usados na área alimentar e, muitas vezes sem distinção. Contudo, é importante fazer a distinção destes dois termos: o filme é uma película formada pela secagem da solução do biopolímero preparada separadamente do alimento, que é posteriormente aplicado; enquanto que o revestimento é obtido de uma mistura aplicada diretamente na superfície do alimento que após secagem leva à formação de um filme (PINHEIRO, et al., 2010).

A composição desses filmes e revestimentos comestíveis é constituída de polímeros naturais que podem melhorar a qualidade e segurança dos alimentos, fornecendo barreiras seletivas à transferência de umidade, absorção de oxigênio, e oxidação lipídica (CERQUEIRA et al., 2009). Além disso, aos filmes podem ser incorporados aditivos alimentícios, agentes antimicrobianos e fármacos (BATISTA, 2004).

No entanto, alguns componentes são importantes na formação dos filmes e revestimentos, tais como os plastificantes, em que geralmente os mais usados são o glicerol e o sorbitol, que atuam nas pontes de hidrogênio, reduzindo as forças intermoleculares ao longo das cadeias do polímero, melhorando na embalagem suas propriedades mecânicas, como flexibilidade, força e resistência (KROCHTA; NISPEROS-CARRIEDO, 1994; McHUGH; KROCHTA, 1994).

A adição de um agente plastificante é necessária para superar a fragilidade dos filmes biodegradáveis, que ficam quebradiços devido às extensivas forças intermoleculares. Os agentes plastificantes reduzem essas forças, suavizam a rigidez da estrutura do filme e aumentam a mobilidade entre as cadeias biopoliméricas, melhorando as propriedades mecânicas do filme (VEIGA et al., 2005).

Assim, Pinheiro et al. (2010), ressaltam que a funcionalidade e o comportamento dos filmes e revestimentos dependem principalmente das suas propriedades mecânicas e de transporte, que por sua vez dependem da composição do filme, do seu processo de formação e do método de aplicação no produto, esse último fator, pode ser tanto por aspersão, como por imersão (geralmente usado para revestir frutos, queijos, vegetais, peixes e carnes).

As matérias-primas empregadas na formação das coberturas e revestimentos comestíveis podem ter origem animal ou vegetal, ou formarem um composto com a combinação de ambas. Polissacarídeos, lipídios e proteínas são as classes de materiais mais empregados, e a escolha, como veremos, depende fundamentalmente das características do produto a ser revestido e do

principal objetivo almejado com o revestimento aplicado (ASSIS; BRITTO, 2014). O interesse de combinar esses componentes é baseado na possibilidade de aproveitar as propriedades particulares dos diferentes ingredientes e suas interações (BALDWIN, et al., 1995).

Dessa forma, esses revestimentos não têm como objetivo substituir o uso dos materiais convencionais de embalagens ou mesmo eliminar o emprego do frio, mas sim o de apresentar uma atuação funcional e coadjuvante, contribuindo para a preservação da textura e do valor nutricional, reduzindo as trocas gasosas superficiais e a perda ou ganho excessivo de água. Ao promover alterações na permeação e, por conseguinte, alterar a atmosfera interna, alguns autores consideram o efeito dessas coberturas similares aos conseguidos pelas embalagens com atmosfera modificada (PARK, 2005; TURHAN, 2010).

De acordo com estudos de Andrade et al., (2018) ao analisarem “Documentos de patentes relacionados à produção de filmes biodegradáveis comestíveis”, constataram que a grande maioria das patentes investigadas foram depositadas na China, além de os principais inventores e depositantes também serem deste país. Outros países, como Japão e Coreia do Sul, também aparecem entre os principais depositantes, demonstrando o interesse asiático em pesquisas na área. É observado um crescente interesse a respeito das pesquisas em filmes comestíveis na última década, sendo 2015 o ano com maior número de patentes depositadas. Esses mesmos autores concluíram ainda que dentre as matrizes utilizadas para os filmes, os polissacarídeos foram as principais, dentre os quais amido, quitosana e gomas se destacaram. Foi observado também que 45% dos filmes foram formulados com a incorporação de aditivos, como abordado em vários artigos e prospecções, sendo destacados os de função antimicrobiana.

### 3.2 Quitosana: matéria-prima utilizada para produção de revestimentos e filmes

A pesquisa em embalagens tem se concentrado em filmes e revestimentos comestíveis, devido a fatores como demanda do consumidor por alimentos de alta qualidade, necessidade de novas técnicas de armazenamento para a indústria alimentícia, conceitos ambientais sobre o descarte de materiais renováveis para embalagens, e oportunidades para criar novos mercados através do uso de resíduos agroindustriais (DURANGO; SOARES; ARTEAGA, 2011).

De acordo com Mello e Vieira (2012) a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) não descreve uma legislação específica para revestimentos comestíveis. Assim, estes revestimentos são considerados ingredientes, quando melhoram a qualidade nutricional do produto, ou aditivos, quando não incrementam o seu valor nutricional. Devem obedecer ao Decreto 55.871, de 26 de março de 1965; à Portaria nº 540 – SVS/MS, de 27 de outubro de

1997 e à Resolução CNS/MS nº 04, de 24 de novembro de 1998, referentes ao regulamento sobre aditivos e coadjuvantes de tecnologia e também às considerações do *Codex Alimentarius*, do *Food and Drugs Administration* (FDA) e todas suas atualizações pertinentes.

Entre as matérias-primas mais utilizadas na produção de coberturas comestíveis, destacam-se os polissacarídeos tais como amido, celulose e os seus derivados de pectina, quitosana, alginato, carragenina, pululano e gelano; os lipídeos como, por exemplo, óleos comestíveis, entre outros; e entre as proteínas tem-se o colágeno, caseína, proteína de soro de leite, zeína de milho, glúten de trigo, proteína de soja, proteína de clara de ovo, proteínas miofibrilares, proteínas da quinoa, queratina e outros compostos (ASSIS; BRITTO, 2014; HAN; GENNADIOS, 2005).

Neste contexto, a quitosana um aminopolissacarídeo, derivado do processo de desacetilação da quitina, que constitui a maior fração dos exoesqueletos de insetos e crustáceos, é assumido como o segundo composto orgânico mais abundante da natureza, ficando atrás apenas da celulose (RATHKE; HUDSON, 1994; ASSIS; SILVA, 2003).

A quitosana é um biopolímero do tipo polissacarídeo, amplamente estudado, principalmente por apresentar uma variedade de propriedades físicas e biológicas que resultam em diferentes aplicações como, por exemplo, em cosméticos, produtos farmacêuticos, biotecnologia, agricultura, processamento de alimentos e nutrição (ALISHAH et al., 2011; LEE, KIM; KIM, 2018)

Percebe-se que inúmeros estudos têm sido publicados sobre caracterização das propriedades funcionais de filmes e revestimentos a base de quitosana, tais como: Em revestimentos comestíveis de produtos minimamente processados (SOARES et al., 2011); Produtos cárneos, onde elabora-se uma mistura de quitosana com gelatina como revestimento para reduzir a deterioração de cor de vermelho para marrom, como consequência de um acúmulo gradual de metamioglobina na superfície da carne, principalmente devido à exposição de oxigênio e oxidação lipídica dos bifos de carne bovina (CARDOSO, 2016). Efeito de revestimento com quitosana na contaminação de carnes bovina fresca comercializadas em feira livre (SILVA, 2019).

### 3.3 Alecrim (*Rosmarinus officinalis L*): aditivo natural

O uso de especiarias como o alecrim (*Rosmarinus officinalis L*) visa à ação como antioxidante natural, por conta de suas propriedades aromáticas, fenóis antioxidantes e antimicrobianos (MADSEN et al., 1996; FIB, 2010).

Ao alecrim já foram atribuídas propriedades biológicas que estão diretamente relacionadas com a sua composição rica em compostos bioativos (BORRÁS-LINARES et al., 2014). Sendo esse, considerado uma planta medicinal amplamente utilizada em todo o mundo e uma das espécies com maior atividade antioxidante (PENG, Y., YUAN; LIU; YE, 2005).

Segundo Tewari e Virmani (1987), o alecrim pode ser usado fresco, como óleo essencial ou extrato, esse último, foi considerado pela União Europeia como conservante alimentar seguro e eficiente, sendo o ácido rosmarínico o seu principal constituinte (EFSA, 2008).

No que concerne a estudos utilizando o alecrim nas mais diferentes formas, na tecnologia de alimentos, observa-se que: o armazenamento refrigerado de carne de porco pulverizada com extrato de alecrim e ácido ascórbico, apresentou atividade antioxidante lipídica durante o armazenamento refrigerado (PERLO, 2018); O extrato de alecrim apresentou as maiores capacidades antioxidantes ao se analisar as propriedades antioxidantes e antimicrobianas de extratos etanólicos de guaraná, boldo, alecrim e canela (BONILLA; SOBRAL, 2017); Nerín et al. (2006) desenvolveram embalagens ativas, que consistiram de filmes de polipropileno (PP) imobilizados com extrato natural de alecrim e testaram as suas propriedades antioxidantes em mioglobina pura e bifes de carne bovina fresca. Os filmes aumentaram a estabilidade tanto da mioglobina quanto dos bifes contra processos oxidativos, sendo uma maneira promissora de estender a vida de prateleira da carne fresca.

### 3.4 Qualidade da carne bovina

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA, a carne bovina é classificada como carne vermelha apresentando grande importância nutricional, pois fornece os principais nutrientes necessários para dietas (proteínas e lipídeos) (BRASIL, 2017). Ela é uma importante fonte de proteína animal para a dieta humana, devido seu aporte de proteínas de alto valor biológico, vitaminas, minerais, além de características físico-químicas, tais como: suculência, sabor, maciez, firmeza, entre outros, o que a torna um alimento imprescindível na mesa do consumidor (LIMA JÚNIOR, 2012).

A carne é resultante das contínuas transformações bioquímicas que ocorrem no músculo após a morte do animal, a carne é utilizada como alimento de elevada qualidade nutricional devido a sua função plástica, o que influencia a formação de tecidos novos e a regulação de processos fisiológicos e orgânicos, além de fornecer energia (ZEOLA, 2002). Sua composição química exata é difícil de definir, devido aos vários fatores extrínsecos que podem acarretar

nesta variação, como a raça, o sexo, a espécie animal, a idade e o tipo de alimentação (ORDONEZ et al., 2005).

Em geral, uma carne considerada magra apresenta em torno de 75% de água, 21 a 22% de proteína, 1 a 2% de gordura, 1% de minerais e menos de 1% de carboidratos. Também é fonte de minerais como ferro, zinco, cobre, fósforo, potássio e magnésio (ROÇA, 2012).

Dentre os atributos que se relacionam com a aceitação da carne, estão a concentração de ácidos graxos, os parâmetros físicos como pH, cor, perda de peso na cocção, capacidade de retenção de água, maciez e força de cisalhamento são determinantes (SILVA et al., 2008).

Nesse contexto, os consumidores estão se tornando mais esclarecidos e exigentes, pois buscam produtos de maior qualidade. Adicionalmente, a preocupação com os aspectos relacionados à saúde e bem-estar das pessoas, também tem aumentado consideravelmente. No caso específico das carnes, essa demanda acontece tanto pelos atributos intrínsecos de qualidade como, maciez, sabor, quantidade de gordura, como também, pelas características de ordem ou natureza voltadas para as formas de produção, processamento, comercialização, etc (LUCHIARI FILHO, 2006).

Assim, a embalagem influencia a qualidade e a durabilidade de carnes frescas e derivados, pois altera o ambiente ao redor do produto, criando condições que retardam as reações de deterioração, prevenindo a evaporação da umidade do produto, evitando perdas de peso e alterações de aparência, textura e aroma. Contudo, a maior alteração no ambiente que circunda o produto, provocada pela embalagem, é quanto à composição gasosa. Esta atmosfera irá determinar a cor do produto o tipo de extensão da deterioração microbiológica e a velocidade de oxidação dos seus componentes (SARANTÓPOULOS; ANTÔNIO, 2006).

Dessa forma, uma inovação da embalagem comestível é que ela pode carrear aditivos alimentares, como antimicrobianos, vitaminas, saborizantes, antioxidantes, nutrientes, corantes e outros ingredientes funcionais, interagindo com o alimento para se obter um resultado desejável. Essa interação objetiva melhorar a estabilidade, a qualidade, a segurança e a funcionalidade dos alimentos (LABUZA; BREENE, 1989).

Corroborando com o que foi mencionado anteriormente, Conte (2006) relata que o aperfeiçoamento no controle da qualidade da carne é de grande importância para os produtores, para a indústria e para a rede varejista, pois somente dessa maneira serão correspondidas as expectativas dos consumidores em relação à carne. A exigência do mercado quanto à qualidade da carne impõe ao setor produtivo a necessidade de qualificar o produto ofertado e identificar os efeitos das técnicas de manejo, alimentação e melhoramento genético, embora os

consumidores de diferentes países e regiões tenham demonstrado preferências específicas por distintos tipos de carcaças e carnes (REALINI et al., 2013).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró-RN, nos Laboratório de análises instrumentais e sensoriais – LANIS, neste laboratório foram realizadas as análises físicas na carne. As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Inspeção de produtos de origem animal – LIPOA. No Laboratório de Processos Químicos – LPQ foram feitas a preparação e obtenção dos filmes para a caracterização. Laboratório de Pós-Colheita foram efetuadas as análises de cor, absorção de umidade, solubilidade e PVA dos filmes. E no Laboratório de Ensaio Mecânicos foram executadas as análises mecânicas dos filmes. Além do Laboratório de Microscopia Eletrônica Varredura (MEV), do Departamento de Ciências Vegetais.

### 4.1 Preparação do extrato

Para obter o extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*), seguiu-se a metodologia descrita por Michiels et al., (2012), onde utilizou-se uma mistura de solvente (acetona / água / ácido acético glacial, 70: 28: 2% v / v), respectivamente, que foi utilizada em uma razão de 1:20 (g de plantas por mL de mistura de solvente), para extração.

A mistura foi agitada (TE-424; Tecnal) por 1 h a 50 rpm e  $4 \pm 1$  ° C e depois centrifugado por 15 min a 4000 rpm e  $4 \pm 1$  ° C. O sobrenadante foi filtrado utilizando papel de filtro (n ° 1, 125 mm) e concentrada utilizando um evaporador rotativo por 140 min a 45°C. O sobrenadante concentrado foi liofilizado por 48 horas e armazenado em  $18 \pm 1$  ° C até a adição ao revestimento.

### 4.2 Preparação do revestimento

Foram preparadas misturas filmogênicas contendo 3% de quitosana e 0,6% de glicerol, dissolvidos em ácido acético a 2% (p/v). As misturas foram gelatinizadas à temperatura ambiente utilizando agitadores magnéticos por 24 horas. Com o passar do tempo citado, foram feitos os revestimentos de quitosana e os com a incorporação do extrato de alecrim (Tabela 1).

Os filmes foram produzidos seguindo a técnica *casting*, onde segundo Zarpelon (2013), ocorre o espalhamento da solução precursora da amostra sobre um substrato, que após a evaporação total do solvente utilizado, o filme é formado sobre a superfície do substrato.

O preparo ocorreu da seguinte forma: a mistura filmogênica foi depositada em bandejas de acrílico e acondicionado em estufa de circulação de ar por 6 horas a 50°C.

Tabela 1. Composição das matrizes filmogênicas.

Tratamento	Quitosana	Glicerol	Extrato de Alecrim	Ácido Acético 2%
	(%)			
Controle (CO)	-	-	-	-
Revestimento 1 (CQ)	3,0	0,6	-	96,4
Revestimento 2 (A4%)	3,0	0,6	4,0	92,4
Revestimento 3 (A8%)	3,0	0,6	8,0	88,4

Água destilada (controle – CO), revestimento controle quitosana (CQ), revestimento com inclusão de 4% de extrato de alecrim (A4%) e revestimento com inclusão de 8% de extrato de alecrim (A8%).

#### 4.3 Aplicação dos revestimentos em carne bovina

A carne bovina (*Longissimus dorsi* - contra-filé) foi fracionada em bifés com aproximadamente 150 g, posteriormente as amostras de carne foram imersas nos diferentes tratamentos por 1 minutos, drenadas por 1 minuto, logo em seguida acondicionadas em bandejas de poliestireno, recobertas com filme de PVC e armazenadas a 4°C.

Todo o procedimento foi realizado de forma higiênica para que a qualidade da carne não fosse comprometida, seguindo as normas de boas Práticas de Fabricação observadas na resolução – RDC nº 216/ 2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2004)

#### 4.4 Caracterização do revestimento

Quanto à caracterização dos revestimentos, a princípio foram determinadas as espessuras, utilizando-se um micrômetro digital, com precisão de 0,001 mm, através da média aritmética de 10 medidas aleatórias da superfície do filme.



As propriedades mecânicas dos filmes, tensão de ruptura e deformação na ruptura foram determinados através de teste de tração utilizando-se uma máquina de ensaio universal. Amostras (120 x 25,4 mm) foram fixadas em sonda específica, a distância de separação fixada em 100 mm e a velocidade do teste em 50 mm/s. Os testes foram realizados em triplicata.

A medida de absorção de umidade foi realizada de acordo com a metodologia descrita por (GHANBARZADEH; ALMASI; ENTEZAMI, 2011). Três quadrados de 2 cm de lado de cada formulação foram condicionados em um dessecador a 0% RH (sílica gel) por 24 h. Depois de pesados, eles foram condicionados em um dessecador a 75% RH (solução saturada de NaCl) a temperatura ambiente por 24h. Após esse segundo condicionamento, as amostras foram novamente pesadas e a absorção de umidade dos filmes foi calculada segundo a seguinte fórmula:

$$\%ABS = [(Mf - Mi) / Mi] \times 100$$

Onde:

% ABS = percentual de absorção de umidade do filme

Mf = massa final das amostras

Mi = massa inicial das amostras

A matéria solúvel dos filmes foi determinada segundo Gontard et al. (1994). Na qual as mostras do filme (diâmetro = 2 cm) foram imersas em 50 ml de água destilada e mantidas sob agitação mecânica utilizando-se uma câmara incubadora com agitação orbital por 24 h, a 25°C e 68 rpm. Após esse período as amostras foram secas em estufa à 105°C por 24 h. A matéria solúvel foi determinada com a equação:

$$MS = \left( \frac{ms_{inicial} - ms_{final}}{ms_{inicial}} \right) \times 100$$

Onde: MS = matéria solúvel em água (g/100 g de filme);  $ms_{inicial}$  = massa seca inicial das amostras (g);  $ms_{final}$  = massa seca final da amostras (g) após incubação em água destilada.

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada de acordo com o método proposto pela ASTM- E96m (ASTM, 2010). Sendo as amostras cortadas em círculo (diâmetro = 5,3 cm) foram fixadas em células de alumínio contendo 50 g de sílica gel através de um anel perfurado. O sistema (célula+filme) foi colocado em dessecadores contendo água destilada e o mantidos em uma estufa BOD (Marconi, MA 415, São Paulo, Brasil) à 25 C ( $\pm 0,2$  °C). O ganho de massa do sistema foi determinado durante o período de 12 horas. A PVA foi calculada utilizando-se a eq. (5).

$$PVA = \frac{Gx}{t Ae P0 (R1 - R2)}$$

Onde: PVA = permeabilidade ao vapor de água (g mm/cm h kPa); x = espessura dos filmes 2 (mm); Ae = área exposta (32,15 cm); P0 = pressão de vapor de água na temperatura de 25 °C (3159 kPa); (R1 – R2) = diferença de umidade relativa (100); G/t (g/h) = coeficiente angular da regressão linear de reta de ganho de massa do sistema versus tempo.

Os parâmetros de cor (L\*, a\* e b\*) dos filmes foram determinados de acordo com Gennadios et al. (1996), utilizando-se um colorímetro (HunterLab, Miniscan XE plus, Reston, EUA) controlado pelo programa Universal Software. Para a determinação do L\*, a\* e b\* os filmes foram sobrepostos sobre uma placa branca. A calibração do equipamento foi realizada utilizando placas preta e branca como padrão (L\* = 93,9; a\* = -0,8 e b\* = 1,2).

A propriedade de barreira na região do UV/Vis foi determinada de acordo com Fang et al. (2002) utilizando-se um espectrofotômetro UV/Vis Biochrom (Libra S22, Cambridge, Inglaterra). Amostras dos filmes (10 cm de comprimento e 1,5 cm de largura) foram fixadas no lugar da cubeta, de modo que o feixe de luz passasse pela superfície dos filmes. Foram realizadas medidas da transmitância nos comprimentos de onda entre 200 e 800 nm.

$$\text{TRANSPARÊNCIA (\%)} = \frac{\text{ABS600}}{x}$$

Onde: ABS600 = absorvância do filme em 600 nm; x = espessura do filme (mm).

Microscopia de Varredura Eletrônica (MEV), para a obtenção das imagens por MEV em um Microscópio Eletrônico de Varredura modelo VEGA 3 LMU, as amostras foram previamente metalizadas com carbono/ouro. Os aumentos utilizados foram de 1000, 2000 e 5000 vezes, observando-se que aumentos muito superiores prejudicavam o foco para a voltagem aplicada, de 10 kV, e o aumento desta degradaria as amostras.

#### 4.5 Análises físico-químicas

Os bifes, recobertos ou não com o revestimento comestível, foram avaliados em triplicata, no tempo de armazenamento zero, 24 horas após a inserção dos tratamentos e novamente após 2, 4 e 8 dias de armazenamento refrigerado a 4°C ± 1°, sendo contabilizados os tempos subsequentes a partir do tempo zero e analisados:

##### 4.5.1 pH

O pH das amostras foi determinado de acordo com a metodologia estabelecida pela AOAC (2005), onde utilizou-se o pHmetro digital HANNA® modelo HI 99163, acoplado a um

eletrodo de penetração. O pH foi mensurado diretamente no músculo.

#### 4.5.2 Cor

A cor foi avaliada através do colorímetro Konica Minolta, CM-700d/600d (Sistema CIE L\*a\*b\*), cujo sistema considera as coordenadas L\* luminosidade (preto/branco), a\* teor de vermelho (verde/vermelho) e b\* teor de amarelo (azul/amarelo).

#### 4.5.3 Capacidade de retenção de água – CRA

A determinação da capacidade de retenção de água (CRA) foi baseada na medição de perda de água liberada quando aplicada uma pressão sobre o tecido muscular. Através da diferença dos pesos (inicial – final) determinando-se a capacidade de retenção de água, expressa em porcentagem de peso perdido da amostra inicial (HAMM, 1960).

#### 4.5.4 Perda de peso por cocção – PPC

Para a análise de perda de peso por cocção (PPC), foram retiradas três porções do bife (3,0 x 3,0 x 2cm), as quais foram pesadas e em seguida colocadas em um forno pré-aquecido a 180 °C até que a temperatura no centro geométrico da carne, monitorada mediante um termômetro digital atingiu de 71 a 75°C. Posteriormente as amostras foram retiradas do forno e pesadas novamente para o cálculo da porcentagem de perda de água durante o processo térmico (OSÓRIO; OSÓRIO 1998).

#### 4.5.5 Força de Cisalhamento - FC

A força de cisalhamento contou com utilização das amostra usadas para a PPC, sendo essas reutilizadas para a análise de FC, das quais foram retirados 03 cilindros por porção de carne cozida, no sentido das fibras, (totalizando 09 cilindros) e mensurada por meio de um Texture Analyzer Taxt-125, acoplado ao dispositivo Warner-Bratzler, o qual expressa a força em kgf/cm<sup>2</sup> (HAMM, 1960).

#### 4.6 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

Para o teste das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), foi utilizado 0,5g de carne, com adição da solução estoque (ácido tiobarbitúrico a 0,375%, ácido tricloroacético a 15% e HCl a 0,25M), em que as amostras positivas desenvolvem a cor rosa durante o aquecimento. A absorbância da solução foi determinada em 532nm contra o branco. A quantidade de TBARS será expressa como miligramas de malonaldeído por kg de carne bovina (AMSA, 2012).

#### 4.7 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas das amostras de carne cobertas ou não com revestimento de quitosana e extrato de alecrim foram realizadas em triplicata e no tempo de armazenamento zero, novamente após 2, 4 e 8 dias de armazenamento refrigerado a  $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}$ , sendo contabilizados os tempos subsequentes a partir do tempo zero. Para as análises microbiológicas, as amostras de carne foram pesadas (25g) de forma asséptica e transferidas para sacos plásticos estéreis, onde foram acrescidos 225 mL de água peptonada tamponada estéril para posterior homogeneização em “Stomacher” durante 2 minutos, obtendo-se assim a diluição  $10^1$ , a partir da qual foram obtidas as demais diluições decimais até  $10^5$ . Após a diluição, as amostras foram submetidas às técnicas para detectar a presença ou ausência de *Salmonella* spp., sendo essa análise realizada apenas no tempo 0, e determinação do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes a  $45^{\circ}\text{C}$ , somente no tempo 0, as demais análises de contagem total de psicotróficas, bactérias aeróbias mesófilas e *Staphylococcus* spp., foram executadas em todos os dias amostrais, utilizando-se a metodologia oficial para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água (BRASIL, 2003).

#### 4.8 Análises estatísticas

No que se refere à análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de médias. Os efeitos dos diferentes tratamentos sobre cada variável foram comparados por meio do teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Os procedimentos estatísticos foram conduzidos utilizando-se o SISVAR (versão 5.6., 1996).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Caracterização dos filmes

Observou-se pouca variação da espessura dos filmes (Tabela 2), não havendo diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre esses valores. Os filmes produzidos neste estudo apresentaram espessuras que variaram de 0,07 a 0,09 mm, e foram maiores que os de Pires et al. (2009), que relatam medidas de espessuras de biomembranas constituídas dos polímeros quitosana e xantana tiveram como resultados variações de 0,022 a 0,041mm. De acordo com Rathke e Hudson (1994), os filmes de quitosana têm sido normalmente obtidos de maneira bem simples e rudimentar: o polímero é dissolvido em meio apropriado e vertido sobre uma superfície plana. Após a evaporação do solvente o filme é removido por destacamento. A maioria dos filmes processados dessa forma são irregulares quanto a sua espessura.

Tratando-se da solubilidade (Tabela 2), apesar de não ter havido diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos, percebe-se que o filme controle (quitosana - CQ) teve sua solubilidade maior que os filmes inclusos de extratos de alecrim, mostrando uma contribuição desses extratos para a diminuição da solubilidade desses filmes. Os resultados se assemelham com os encontrados por Silva et al. (2015), em que caracterizaram filmes a base de quitosana, com valores de solubilidade entre 34,7% e 37,5%, onde destacam que os tais filmes apresentaram considerável perda de massa, o que de certa forma é comum em filmes obtidos de polissacarídeos, tipicamente sensíveis a solubilização em água. A maior solubilidade dos filmes constituídos apenas de quitosana (CQ), sem adição dos extratos de alecrim, pode ser atribuída à maior capacidade de ligação das moléculas de água ao plastificante (glicerol) e aos grupos funcionais da quitosana, como descrito por Ojagh et al., (2010).

A absorção de umidade (Tabela 2), variou significativamente ( $p < 0,05$ ) entre o tratamento controle e os tratados com diferentes níveis de inclusão de extratos de alecrim, que não diferiram entre si, no entanto, o tratamento incluso de 8% de extrato de alecrim (A8%), apresentou o menor resultado. Nos estudos de Lima (2006), com filmes de alginato de sódio, constatou-se absorção de umidade de 17% de água, valor superior ao encontrado no presente teste quando comparado aos tratamentos inclusos de extrato de alecrim e inferior ao filme de quitosana (CQ). Elevadas taxas de absorção de umidade trazem consequências indesejáveis como a redução da estabilidade estrutural do polímero. Ou seja, a presença constante de umidade na estrutura do polissacarídeo provoca o intumescimento da matriz com consequente

desagregação das fibras e destacamento do filme, além da aceleração da degradação por ataque de microrganismos (ASSIS; ALBERTINI, 2009).

Na avaliação da permeabilidade ao vapor de água (PVA), percebe-se que há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos CQ e A8%, entretanto, não há significativa diferença ( $p < 0,05$ ) de ambos os tratamentos citados anteriormente com A4% (Tabela 2). Os resultados descritos no presente estudo são menores que os encontrados por Moura et al. (2011), onde para filmes de quitosana puro tiveram valores de PVA de 1,96 g mm/ m<sup>2</sup>.kPa, evidenciando que os filmes aqui pesquisados possuem melhores propriedades em relação à baixa permeabilidade ao vapor de água. Esta é uma característica interessante visto que a propriedade de barreira ao vapor de água é considerada uma das mais importantes, para aplicação de filmes em alimentos, para evitar processos de deterioração (DENAVI et al., 2009).

Tabela 2. Avaliação dos filmes à base de quitosana e extrato de alecrim: espessura, solubilidade, transparência, absorção de umidade e permeabilidade ao vapor de água.

ANÁLISE	TRATAMENTOS			CV (%)
	CQ	A4%	A8%	
Espessura (mm)	0,07 a	0,09 a	0,09 a	17,40
Solubilidade (%)	41,67 a	37,91 a	39,37 a	5,51
Absorção de umidade (%)	26,55 a	15,50 b	13,28 b	8,70
Permeabilidade ao vapor de água (g.mm/h.m <sup>2</sup> .kPa)	0,41 b	0,59 ab	0,70 a	19

As médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas (a,b,c), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey quanto aos tratamentos. Revestimento controle quitosana (CQ), revestimento com inclusão de 4% de extrato de alecrim (A4%) e revestimento com inclusão de 8% de extrato de alecrim (A8%).

A transparência (Tabela 3), não variou significativamente ( $p > 0,05$ ) com os tratamentos. O filme de quitosana (CQ) sem adição dos extratos apresentou maior valor quando comparado com os filmes contendo os diferentes níveis de extratos. Estes resultados sugerem que a incorporação dos extratos diminui a transparência do filme de quitosana. Silva et al., (2015) encontram valores de transparência para filmes a base de quitosana entre 8,34% e 16,1% e ressaltaram que esses resultados eram baixos, considerando a transparência de um filme de polietileno que é de 52,4%. Assim, para o desenvolvimento de materiais feitos para serem usados como filmes ou revestimento de alimentos, o aumento da transparência tende a ser melhor uma vez que o objetivo é para manter as características originais do produto, tais como a cor (SOUZA et al., 2009).

Ao avaliar L\* (luminosidade), verifica-se que há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos CQ e A8%, entretanto, não há diferença ( $p > 0,05$ ) de ambos os tratamentos citados anteriormente com A4% (Tabela 3), porém, percebe-se que o aumento da concentração dos extratos de alecrim diminuíram tanto a luminosidade quanto a transparência dos filmes. Esses resultados corroboram com Bohórquez, Enciso e Hernández (2016), onde ao determinarem o efeito da inclusão de óleos essenciais na cor dos filmes de quitosana perceberam que os parâmetros da cor, mudaram com a inclusão de óleos essenciais de tomilho e alecrim e as suas combinações, diminuíram L\*.

Na avaliação da intensidade de a\*, observou-se variação nos tratamentos (Tabela 3), entretanto, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre esses valores. A diminuição do parâmetro a\* indica um aumento da intensidade verde, assim, os resultados encontrados no presente estudo, mesmo indicando a presença do componente vermelho, tendem a cor verde com a adição das diferentes concentrações do extrato de alecrim, possivelmente devido a cor do extrato.

Os valores dos parâmetros de b\* foram positivos devido a cor da quitosana, proporcionando um aumento na intensidade da cor amarela do filme, mas com o acréscimo da concentração dos extratos, tais valores tenderam a diminuir, entretanto, não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre valores nos tratamentos estudados. Peng e Li (2014) e Tongnuanchan, Benjakul e Prodpran (2014) relataram que a incorporação de óleos essenciais em filmes à base de quitosana ou de gelatina também aumentou os valores de b\*.

Tabela 3. Avaliação dos filmes à base de quitosana e extrato de alecrim: transparência e em seus parâmetros de cor.

ANÁLISE	TRATAMENTOS			CV (%)
	CQ	A4%	A8%	
Transparência (%)	2,56 a	1,98 a	1,90 a	13,41
Cor L* (%)	73,50 a	72,55 ab	69,48 b	1,90
Cor a* (%)	1,86 a	1,11 a	1,09 a	23,37
Cor b* (%)	32,90 a	27,56 a	29,78 a	13,74

As médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas (a,b,c), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey quanto aos tratamentos. Revestimento controle quitosana (CQ), revestimento com inclusão de 4% de extrato de alecrim (A4%) e revestimento com inclusão de 8% de extrato de alecrim (A8%).

Na Tabela 4 são apresentadas as propriedades mecânicas obtidas para os filmes poliméricos sintetizados neste trabalho. A incorporação do extrato de alecrim nas diferentes concentrações (4% e 8%) não alterou significativamente ( $p > 0,05$ ) a tensão de ruptura, assim

como no filme controle, de quitosana pura, esse comportamento se deu possivelmente pelas concentrações de quitosana e glicerol serem as mesmas em todos os tratamentos. A tensão na ruptura é influenciada pela concentração de glicerol e pela concentração de polissacarídeo, de forma que altas concentrações de polissacarídeo combinadas com baixos conteúdos de glicerol, induz a formação de filmes com alta força de ruptura (MALI, et al., 2005).

Percebe-se também que há diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na diminuição da porcentagem de deformação para os filmes poliméricos incorporados com as diferentes concentrações de extrato de alecrim, quando comparado com o filme de quitosana pura. A deformação na ruptura mede a porcentagem de extensão sofrida pelo filme antes da sua ruptura, ou seja, a capacidade de elasticidade do filme. A diminuição da deformação com a inclusão dos extratos pode estar relacionada a alterações na plasticidade do filme produzido, alterando as propriedades mecânicas dele, aumentando sua flexibilidade (LOPES et al., 2014).

As propriedades mecânicas dos filmes comestíveis são importantes para preservar seu comportamento de barreira. A resistência mecânica adequada garante a integridade de um filme e sua resistência à quebra e abrasão e reduz a ocorrência de defeitos, como buracos ou fissuras, que estragam as propriedades da barreira. A flexibilidade adequada garante plasticidade suficiente para se adaptar a possíveis deformações sem quebrar durante a utilização (GUILBERT et al., 1995).

Tabela 4. Avaliação das propriedades mecânicas dos filmes à base de quitosana e extrato de alecrim.

ANÁLISE	TRATAMENTOS			CV (%)
	CQ	A4%	A8%	
Deformação (%)	14,52 a	7,69 b	8,77 b	8,74
Tensão (%)	16,11 a	17,35 a	16,66 a	11,38

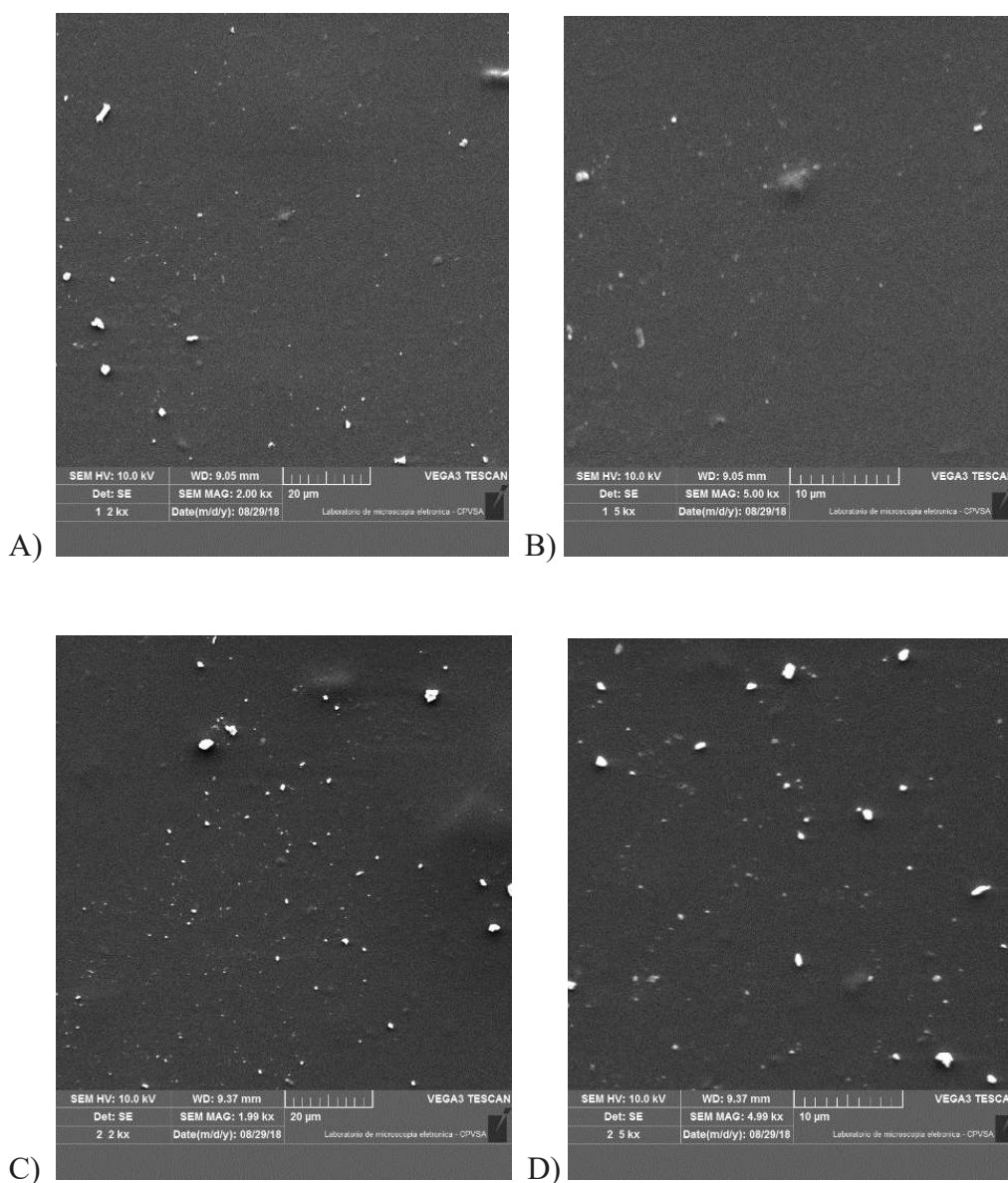
As médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas (a,b,c), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey quanto aos tratamentos. Revestimento controle quitosana (CQ), revestimento com inclusão de 4% de extrato de alecrim (A4%) e revestimento com inclusão de 8% de extrato de alecrim (A8%).

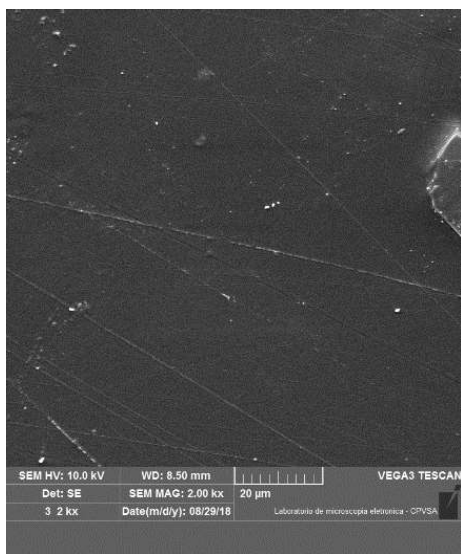
Ao analisar de forma qualitativa a microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos filmes de quitosana (CQ), observa-se uma superfície estável, uniforme e com a presença de poucas falhas. No que concerne aos filmes que possuem em sua composição os diferentes níveis de extrato de alecrim (A4% e A8%), percebe-se defeitos, possivelmente devido a processos de deposição ou adsorção em função de impurezas presentes no substrato ou na solução (Figura 1). Corroborando com Assis e Silva (2003), que além de destacar o mencionado anteriormente, ressaltou em seu trabalho com caracterização estrutural e capacidade de absorção de água em



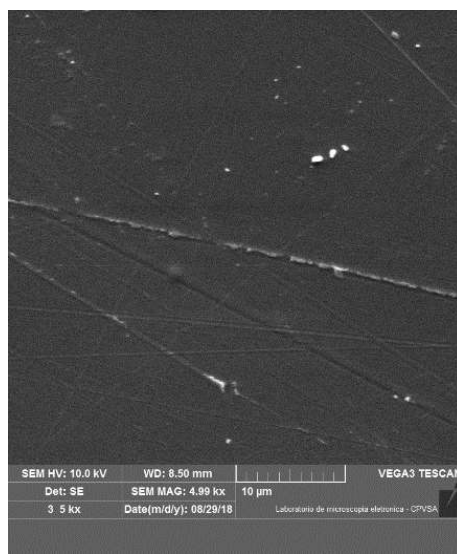
filmes finos de quitosana processados em diversas concentrações, filmes homogêneos e uniformes. Este comportamento também foi observado por Kolodziejska e Piotrowska (2007) em estudos das propriedades mecânicas de filmes de gelatina-quitosana modificados quimicamente com transglutaminase.

Figura 1. Superfície dos filmes a base de quitosana (A e B), quitosana e 4% de extrato de alecrim (C e D) e quitosana e 8% de extrato de alecrim (E e F) submetidos a microscopia eletrônica de varredura (MEV).





E)



F)

## 5.2 Análises físico-químicas

### 5.2.1 pH

Observa-se que houve efeito significativo ( $p < 0,05$ ) dos tipos de revestimentos e do tempo para pH (Tabela 5). Os valores de pH da amostra controle (CO) foram superiores aos demais tratamentos (CQ, 4% e 8%). Entretanto, apropriados ao consumo humano ao longo de todo o experimento, estavam apenas as carnes com revestimentos inclusos de extratos de alecrim (4% e 8%), já o revestimento controle de quitosana (CQ), apresentou-se consumível até o 4º dia de avaliação. Essas informações são baseadas na legislação brasileira, que diz que o pH ideal da carne para o consumo é entre 5,8 e 6,2, as carnes com o pH abaixo de 5,5 e acima de 6,4 são classificadas como impróprias para o consumo (BRASIL, 1981), denominadas como PSE e DFD, respectivamente.

Tabela 5. Avaliação do pH da carne bovina *in natura*, submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis.

DIAS	ANÁLISE	TRATAMENTOS				CV (%)
		CO	CQ	A4%	A8%	
0	pH	5,89 Da	5,86 Ca	5,73 Cb	5,51 Bc	0,76
2		6,44 Ca	6,07 Bb	5,77 BCc	5,88 Ad	
4		6,62 Ba	6,14 Bb	5,83 Bc	5,81 Ac	
8		7,57 Aa	6,45 Ab	5,96 Ac	5,88 Ac	

As médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas (a,b,c), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey quanto aos tratamentos. As médias na mesma coluna com diferentes letras maiúsculas (A,B,C), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey, quanto aos dias. Água destilada (controle – CO), revestimento controle quitosana (CQ), revestimento com inclusão de 4% de extrato de alecrim (A4%) e revestimento com inclusão de 8% de extrato de alecrim (A8%).

Segundo Lorenzo et al. (2014), o pH reflete diretamente a qualidade microbiológica da carne, sendo que altos valores de pH estão relacionados a um maior número de microrganismos deteriorantes, resultando em uma elevada degradação de proteínas para produção de aminoácidos livres que levam a formação de amônia ( $\text{NH}_3$ ) e aminas, produtos de reação alcalinas. Assim, de acordo com Jay (2005), o início da degradação da carne é acompanhado por um aumento no pH. As ocorrências citadas por esses autores, corroboram com os resultados encontrados no presente estudo, no que concerne a pesquisa dos microrganismos indicadores de qualidade higiênica dos alimentos (Tabela 2).

### 5.2.2 Cor

A cor da carne é um dos primeiros atributos a ser observado pelo consumidor tendo, portanto, grande importância na decisão deste na hora de efetuar a compra (SHIMOKOMAKI et al., 2006).

Nesse estudo, todos os parâmetros de cor estudados (L,  $a^*$  e  $b^*$ ) foram afetados significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo tratamento e pelo tempo (exceto no teor de  $a^*$  A4%) de refrigeração (Tabela 6). No tempo zero, o controle (CO) apresentou o maior valor de luminosidade (L), se diferenciando estatisticamente ( $p < 0,05$ ) dos demais tratamentos (CQ, A4% e A8%). Porém, com o passar dos dias essa luminosidade diminuiu gradativamente, tendência observada entre todos os tratamentos ao longo das avaliações e havendo diferença estatística ( $p < 0,05$ ) a partir do 4º dia, evidenciando que os bifes se tornaram mais escuros. No entanto, os revestimentos com adição dos extratos de alecrim conseguiram ser mais eficientes contra esse

processo de escurecimento, demonstrando que as carnes mantiveram um brilho ou luminosidade maior.

Tabela 6. Parâmetros da cor avaliados na carne bovina *in natura*, submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis.

DIAS	ANÁLISE	TRATAMENTOS				CV (%)
		CO	CQ	A4%	A8%	
0	Cor L*	70,55 Aa	69,58 Ab	69,15 Ab	69,03 Ab	0,4
2		68,53 Ba	68,30 Ba	68,35 Ba	68,53 Aa	
4		65,46 Cd	66,80 Cc	68,60 Aba	67,70 Bb	
8		57,46 Dc	64,55 Db	67,43 Ca	67,60 Ba	
0	Cor a*	4,68 Aa	4,84 Aa	2,64 Ab	2,45 ABb	5,51
2		3,78 Ba	3,36 Bb	2,54 Ac	2,27 Bc	
4		1,68 Cb	2,66 Ca	2,44 Aa	2,63 Aa	
8		1,67 Cc	2,13 Db	2,53 Aa	2,70 Aa	
0	Cor b*	7,56 Ca	7,40 Ba	7,38 Ca	7,36 Ca	2,71
2		10,53 Ab	10,25 Ab	11,42 Aa	10,46 Ab	
4		6,62 Dc	7,47 Bb	7,62 Cb	8,47 Ba	
8		8,67 Ba	7,54 Bb	8,81 Bb	7,81 Ca	

As médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas (a,b,c), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey quanto aos tratamentos. As médias na mesma coluna com diferentes letras maiúsculas (A,B,C), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey, quanto aos dias. Água destilada (controle – CO), revestimento controle quitosana (CQ), revestimento com inclusão de 4% de extrato de alecrim (A4%) e revestimento com inclusão de 8% de extrato de alecrim (A8%).

Pôde-se observar que a aplicação dos revestimentos comestíveis favoreceu a cor dos bifés e se diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ) do controle (CO) a partir do 4º dia de avaliação, mantendo um melhor teor de vermelho (a\*). Para essa variável o revestimento com inclusão de 4% de extrato de alecrim (A4%), não se diferiu estatisticamente ao longo do tempo, se mostrando o revestimento com melhor potencial de manutenção do teor de a\*. Assim, a menor taxa de redução do valor de a\* para os bifés revestidos pode ser atribuída a ação do revestimento na inibição da conversão de oximioglobina (O<sub>2</sub>Mb) em metamioglobina (MMb). A perda da coloração vermelha superficial da carne está intimamente relacionada com a taxa de oxidação da oximioglobina para metamioglobina (RODRÍGUEZ; BATLLE; NERÍN, 2007).

Para Georgantelis et al. (2007), ao avaliarem a estabilidade da cor durante o armazenamento de hambúrgueres de carne bovina congelados em relação ao efeito da adição diferentes soluções contendo extrato de alecrim, quitosana e tocoferol, observaram que os valores de a\* diminuíram no decorrer do tempo, sendo que os hambúrgueres que continham o

extrato de alecrim e quitosana foram os que obtiveram a menor diminuição, corroborando com o que ocorreu neste estudo.

Houve uma variação nos valores do teor de  $b^*$  para todos os tratamentos a partir do 2º tempo de avaliação. Mudanças nos valores de  $b^*$  com a aplicação de revestimentos podem estar relacionadas à espessura do filme formado nos bifés (CARDOSO, 2011).

Segundo Seyfert et al. (2006), músculos que apresentam valores baixos de  $b^*$  são menos estáveis quanto a cor. De acordo com Sañudo et al. (2000), fatores que podem prejudicar a cor da carne estão relacionados a temperatura alta da carne, intensidade e tipo de luz, a nutrição, o tempo de maturação e a idade.

### 5.2.3 Capacidade de retenção de água - CRA

De acordo com a Tabela 7, percebe-se que os revestimentos melhoraram a capacidade de retenção de água e, a adição dos extratos de alecrim potencializou essa resposta, melhorando o CRA em todos os tempos. Esses dados aqui apresentados, auxiliam na determinação positiva dos demais parâmetros de qualidade da carne. Segundo Alves (2015), estudando a avaliação dos efeitos de revestimentos naturais na conservação de carne bovina resfriada e embalada a vácuo, o revestimento de quitosana e glicerol favoreceu a retenção de água em amostras de carne *in natura* (*L. dorsi*), tal resultado, corrobora com a presente pesquisa.

A capacidade de retenção de água da carne é dependente do pH e do meio iônico. No ponto isoelétrico a proteína apresenta carga elétrica líquida igual a zero, neste pH deixa de ocorrer atrações eletrostática e a solubilidade é mínima (RUIZ-RAMIREZ, et al., 2005).

A redução da capacidade de retenção de água resulta em perda de umidade e, portanto, menor rendimento. Carnes com baixa capacidade de retenção de água têm maior perda por cocção (VAUDAGNA et al., 2002; DELLA TORRE; BERAQUET, 2005). Além de perdas no valor nutritivo através do exudado liberado, resultando, após o cozimento, em carnes mais secas e com menor textura (ZEOLA et al., 2002).

A perda excessiva de água não é desejável ao consumidor e nem tampouco à indústria. Ao primeiro, porque provoca perdas nas características sensoriais da carne, como a textura, a maciez, a coloração e a suculência, tornando-a pouco atrativa. Ao segundo, porque as perdas de peso, palatabilidade e valor nutritivo constituem problemas graves para a indústria no que diz respeito ao rendimento e a qualidade dos produtos pós-processados (JONSÄLL, JOHANSSON, LUNDSTRÖM, 2001). Assim, Pardi et al. (2001) relataram que valores

menores de CRA da carne provocam perdas do valor nutritivo pelo exudato liberado, sendo assim, tem-se uma carne mais seca e com menor maciez.

Tabela 7. Capacidade de retenção de água da carne bovina *in natura*, submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis.

DIAS	ANÁLISE	TRATAMENTOS				CV (%)
		CO	CQ	A4%	A8%	
0	CRA	57,76 Ac	55,78 Bc	63,17 Cb	70,99 Ba	2
2		60,07 Ab	62,74 Ab	71,61 Ba	73,03 Aa	
4		57,73 Ac	62,95 Ab	75,01 Aa	74,42 Aa	
8		58,46 Ad	62,99 Ac	71,03 Bb	75,82 Aa	

As médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas (a,b,c), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey quanto aos tratamentos. As médias na mesma coluna com diferentes letras maiúsculas (A,B,C), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey, quanto aos dias. Água destilada (controle – CO), revestimento controle quitosana (CQ), revestimento com inclusão de 4% de extrato de alecrim (A4%) e revestimento com inclusão de 8% de extrato de alecrim (A8%).

#### 5.2.4 Perda de peso na cocção - PPC

De acordo com a Tabela 8, as amostras controles (CO e CQ) obtiveram as maiores perdas por cocção, em relação às amostras pertencentes aos demais tratamentos, esse fator pode estar relacionado as misturas poliméricas, ou ainda, há alguma possível diferença entre os formatos das amostras, contribuindo para esses resultados. Nesse sentido, Mai et al. (1978) descreveram que a área de superfície por unidade de volume exposto ao meio de cozimento é um fator que afeta a perda de peso por cozimento, onde as amostras menos espessas apresentam perdas mais elevadas.

A perda de peso por cocção está relacionada ao rendimento da carne no momento do consumo, podendo ser influenciada pela capacidade de retenção de água nas estruturas da carne (LINARES, 2007), o que corrobora com os resultados encontrados na presente pesquisa, expressos na Tabela 7, onde a inclusão dos revestimentos melhoraram a capacidade de retenção de água. A perda de peso na cocção varia segundo o genótipo, condições de manejo pré e pós-abate e a metodologia no preparo das amostras, tais como a remoção ou padronização da capa de gordura externa e tipo de equipamento, fatores que podem levar a variação da temperatura no processo de cocção (SILVA, et al., 2008).

Tabela 8. Avaliação da perda de peso na cocção (PPC) da carne bovina in natura, submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis.

DIAS	ANÁLISE	TRATAMENTOS				CV (%)
		CO	CQ	A4%	A8%	
0	PPC	36,30 Ba	36,02 Aa	27,18 Bb	28,09 Ab	4,78
2		35,31 Ba	33,50 Aa	28,16 Bb	27,13 Ab	
4		42,27 Aa	34,99 Ab	28,20 Bc	27,61 Ac	
8		36,19 Ba	32,78 Ab	22,78 Ac	25,14 Ac	

As médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas (a,b,c), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey quanto aos tratamentos. As médias na mesma coluna com diferentes letras maiúsculas (A,B,C), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey, quanto aos dias. Água destilada (controle – CO), revestimento controle quitosana (CQ), revestimento com inclusão de 4% de extrato de alecrim (A4%) e revestimento com inclusão de 8% de extrato de alecrim (A8%).

### 5.2.5 Força de cisalhamento – FC

Os resultados referentes a força de cisalhamento (FC) estão apresentados na Tabela 9, onde todas as amostras tratadas tiveram uma diminuição nessa variável ao longo do tempo, ou seja, houve um amaciamento na carne. O que indica que possivelmente a adição dos revestimentos contribuiu com a maciez da mesma. Diante desses resultados, percebe-se também que o processo de maturação afeta diretamente a força de cisalhamento observando-se um decréscimo significativo nos valores da força de cisalhamento por meio do processo de maturação (FRENCH et al., 2001; MONSÓN et al., 2004).

O processo todo de amaciamento da carne que ocorre durante a estocagem refrigerada, ou maturação, consiste na proteólise dos componentes estruturais das miofibrilas. As enzimas proteolíticas atuam ocasionando algumas alterações no tecido muscular, como: (a) degradação e/ou enfraquecimento gradual da linha Z, que conduz à degradação das miofibrilas; (b) desaparecimento da troponina T; (c) degradação da desmina e nebulina e, provavelmente, da titina (proteínas estruturais do tecido muscular). Essas alterações causam diminuição da rigidez e aumento gradativo da maciez da carne (KOOHMARIE, 1993).

Alguns fatores afetam diretamente a maciez da carne, dentre os quais destacamos a dieta, genótipo, idade e peso de abate, condições de abate e armazenamento da carne (SILVA et al., 2008).

Tabela 9. Avaliação da força de cisalhamento (FC) da carne bovina *in natura*, submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis.

DIAS	ANÁLISE	TRATAMENTOS				CV (%)
		CO	CQ	A4%	A8%	
0	FC	4,83 Aa	3,81 Ab	3,56 Abc	3,30 Ac	5,57
2		4,12 Ba	3,33 Bb	3,15 Bb	2,47 Bc	
4		3,68 Ca	2,55 Cc	3,24 ABb	2,55 Bc	
8		1,71 Db	2,42 Ca	2,66 Ca	2,44 Ba	

As médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas (a,b,c), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey quanto aos tratamentos. As médias na mesma coluna com diferentes letras maiúsculas (A,B,C), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey, quanto aos dias. Água destilada (controle – CO), revestimento controle quitosana (CQ), revestimento com inclusão de 4% de extrato de alecrim (A4%) e revestimento com inclusão de 8% de extrato de alecrim (A8%).

### 5.3 Atividade antioxidante

Os processos oxidativos são um dos principais mecanismos de deterioração da qualidade em carnes e produtos derivados. Levam à degradação de lipídios, proteínas e pigmentos, causando perda de sabor, cor, valor nutritivo, e ainda limitam a vida de prateleira destes produtos (LIU et al., 2010). Dessa forma, a Tabela 10 evidencia os resultados da avaliação da capacidade antioxidante dos diferentes tipos de revestimentos aplicados a carne bovina *in natura*.

Tabela 10. Atividade antioxidante da carne bovina *in natura*, submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis.

DIAS	ANÁLISE	TRATAMENTOS				CV (%)
		CO	CQ	A4%	A8%	
0	TBARS	0,1730 Da	0,1756 Ca	0,1076 Bb	0,1053 Cb	8,68
2		0,2863 Ca	0,2663 Ba	0,1053 Bb	0,1436 Cb	
4		0,4846 Ba	0,4663 Aa	0,3096 Ab	0,3156 Ab	
8		0,5866 Aa	0,4753 Ab	0,3096 Ac	0,2573 Bc	

As médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas (a,b,c), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey quanto aos tratamentos. As médias na mesma coluna com diferentes letras maiúsculas (A,B,C), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey, quanto aos dias. Água destilada (controle – CO), revestimento controle quitosana (CQ), revestimento com inclusão de 4% de extrato de alecrim (A4%) e revestimento com inclusão de 8% de extrato de alecrim (A8%).



É possível perceber, que os filmes produzidos apenas com quitosana (CQ) e sem a adição dos diferentes níveis de extrato de alecrim, diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) daqueles em que havia a inclusão desses extratos, se assimilando ao controle (CO) em que apenas foi imerso em água destilada, evidenciando um fator oxidante do composto nesse estudo até o 4º dia de avaliação. Wu et al. (2000), relataram que bifes envoltos por filmes de quitosana apresentaram maiores índices de TBARS que o controle. Segundo os autores, isso, provavelmente, ocorreu devido à alta permeabilidade ao oxigênio da quitosana em sua forma gelatinosa. No entanto, no 8º dia de análise, as amostras com quitosana, apresentam um retardo na oxidação lipídica da carne, quando comparadas estatisticamente com o tratamento à base de água destilada, evidenciando um controle do processo de oxidação nesse tempo. O mecanismo de ação antioxidante da quitosana em carnes e derivados, é atribuído à sua capacidade de atuar como quelante de íons metálicos, tais como o ferro, ligado às moléculas de hemoglobina e mioglobina, o qual age como catalisador desta reação (BARRETEAU; DELATTRE; MICHUD, 2006).

Em contrapartida aos resultados citados acima, os revestimentos onde havia a inclusão dos extratos de alecrim, tanto nos níveis de 4% como de 8%, demonstram capacidade antioxidante significativa entre os tratamentos e ao longo dos tempos de avaliação, obtendo melhor desempenho. Esses resultados estão em acordo com os de Nerín et al. (2006) desenvolveram embalagens ativas, que consistiram de filmes de polipropileno (PP) imobilizados com extrato natural de alecrim e testaram as suas propriedades antioxidantes em mioglobina pura e bifes de carne bovina fresca. Os filmes aumentaram a estabilidade tanto da mioglobina quanto dos bifes contra processos oxidativos, sendo uma maneira promissora de estender a vida de prateleira da carne fresca.

Além do estudo mencionado anteriormente, há alguns outros realizados em produtos cárneos, como salsichas e almôndegas, onde o extrato de alecrim demonstrou maior atividade antioxidante quando comparado a diversos antioxidantes naturais, como a quitosana, o  $\alpha$ -tocoferol, extratos de limão e laranja (FERNANDEZ-LOPEZ et al., 2005; GEORGANTELIS et al., 2007).

## 5.1 Análises microbiológicas

A resolução RDC nº 12 de 2001 (BRASIL, 2001) estabelece como parâmetro de qualidade microbiológica da carne *in natura* apenas a ausência de *Salmonella* spp. em 25g de amostra. Em conformidade com o que foi citado, a carne analisada neste estudo não apresentou

presença deste microrganismo, demonstrando adequação ao consumo. A presença desse patógeno na carne pode causar consequências graves ao consumidor principalmente à aqueles que possuem um sistema imunológico fragilizado podendo levar ao óbito em casos mais graves (FRANCO; LANDGRAF, 2004).

Com relação aos coliformes a 45° C, foram encontrados valores médios de 1100 NMP/g tanto nas amostras tratadas, como no controle. Estes são parâmetros importantes para avaliação da qualidade do produto em estudo, no entanto, não há uma legislação para estes microrganismos, mas foram pesquisados para verificação do estado higiênico-sanitária da carne (COSTA, 2018).

Outros indicadores microbiológicos avaliados neste trabalho apresentaram quantificações diferentes entre os tempos e os tratamentos, conforme apresentado na Tabela 11.

Tabela 11. Contagem microbiológica da carne bovina *in natura*, submetida aos diferentes tipos de revestimentos comestíveis.

DIAS	ANÁLISE	TRATAMENTOS				CV (%)
		CO	CQ	A4%	A8%	
0	Mesófilos	6,40 Ba	6,40 Ba	6,40 Aa	6,40 Aa	5,29
2		7,39 ABA	7,33 Aba	6,54 Aa	6,65 Aa	
4		7,40 Aa	7,40 Aa	5,73 ABb	5,69 ABb	
8		7,40 Aa	7,40 Aa	5,57 Ab	5,07 Bb	
0	Psicrotróficos	6,40 Ba	5,50 Bb	5,40 Bb	3,91 Cc	1,4
2		7,40 Aa	7,40 Aa	5,67 Ab	5,27 Ac	
4		7,40 Aa	5,70 Bb	4,71 Cc	4,65 Bc	
8		7,40 Aa	5,67 Bb	4,64 Cc	4,47 Bc	
0	<i>Staphylococcus ssp.</i>	3,57 Ba	2,82 Ab	0 Ac	0 Ac	0
2		0 Ca	0 Ba	0 Aa	0 Aa	
4		0 Ca	0 Ba	0 Aa	0 Aa	
8		5,39 Aa	0 Ba	0 Aa	0 Aa	

As médias na mesma linha com diferentes letras minúsculas (a,b,c), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey quanto aos tratamentos. As médias na mesma coluna com diferentes letras maiúsculas (A,B,C), diferem significativamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey, quanto aos dias. Resultados expressos em Log<sub>10</sub> UFC/ g. Água destilada (controle – CO), revestimento controle quitosana (CQ), revestimento com inclusão de 4% de extrato de alecrim (A4%) e revestimento com inclusão de 8% de extrato de alecrim (A8%).

A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos diferiu significativamente ( $p < 0,05$ ) nos revestimentos onde havia a inclusão dos extratos de alecrim, dos demais tratamentos, apresentando uma tendência de redução desses microrganismos a partir do 4° dia de análise. O resultado descrito anteriormente, também pode estar associado a temperatura de refrigeração (4° C) em que as amostras eram mantidas. De acordo com Nottingham (1982), o fator mais

importante na seleção da microflora da carne fresca é a temperatura que influencia na natureza da microbiota que se tornará dominante.

Comportamento semelhante aconteceu com microrganismos psicrotróficos, onde até o 2º dia de análise há um crescimento e a partir do 4º um decréscimo para os tratamentos. Esses resultados mostram que estas bactérias foram detectadas nas amostras controle e nas amostras tratadas, porém, esta observação não sugere a depreciação das amostras, exceto no caso do controle, pois para este grupo de microrganismos a contagem limite está acima de 7,0 log<sub>10</sub> UFC/g. Nesta condição, geralmente observa-se a presença de limosidade e odor desagradável (JAY, 1998; ICMSF, 1985; NOSKOWA, 1972).

Apesar da legislação brasileira não estabelecer limites em relação às contagens de bactérias aeróbias mesófilas e psicrotróficas, estas análises são fundamentais para avaliar o estado de deterioração de carnes (SOARES et al., 2015). De acordo com Delazari (1979), carnes cuja população de microrganismos mesófilos supera 7 log<sub>10</sub> UFC/g apresentam-se deterioradas, como consequência da baixa qualidade microbiológica que, por sua vez, reflete em alterações nutricionais e sensoriais, o que não ocorreu nesse estudo para os tratamentos.

Quanto a contagem de *Staphylococcus* spp. observou-se que as amostras não apresentaram diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos a partir do dia 2. Esse é um resultado benéfico, pois evidencia a ação imediata das diferentes concentrações do extrato de alecrim e quitosana sobre esse microrganismo, já que a importância de patógenos como *Staphylococcus* spp. em alimentos crus está ligada ao seu poder enterotoxigênico com consequentes distúrbios gastrointestinais quando da ingestão de alimentos contaminados. Ressalta-se que o microrganismo é termolábil, podendo ser destruído após o processo normal de cocção. Contudo, a enterotoxina produzida previamente no alimento é termorresistente, podendo permanecer ativa por vários dias (GOMES; FURLANETTO, 1997). Porém, estes resultados podem estar também associados a presença de outros microrganismos na carne, sendo esse fator um ponto importante, pois os *Staphylococcus* spp. são considerados mal competidores (LOIR et al., 2003).

Como os extratos vegetais possuem moléculas polares e apolares, alguns relatos constataram que os compostos fenólicos mais apolares dos extratos de alecrim são presumivelmente responsáveis por sua atividade antibacteriana (DEL CAMPO et al., 2000; KARAMANOLI et al., 2000). Davidson (1993) relatou que as bactérias gram-positivas são geralmente mais suscetíveis a compostos fenólicos não-polares do que os microrganismos

gram-negativos. Isso pode explicar as diferenças na atividade antibacteriana nos revestimentos onde há a presença dos extratos de alecrim.

Assim, de acordo com Soares et al. (2013) a maior sensibilidade de gram-positivas pode ser conforme mencionado acima pela parede bacteriana. Esta pode ser um obstáculo para ação do princípio ativo e, no caso deste trabalho, da ação do extrato de alecrim. Mesmo com a presença da parede o trabalho mostra certa eficiência no uso dessa planta como agente antimicrobiano.

O efeito antibacteriano do alecrim tem sido amplamente demonstrado em vários estudos com alimentos: almôndegas (FERNÁNDEZ-LÓPEZ, 2005), carne cozida (AHN; GRÜN; MUSTAPHA, 2007) e linguiça de porco (PANDIT; SHELEF, 1994). Relatos de Camo et al. (2008) em seus estudos com a extensão da vida útil do cordeiro com embalagem ativa antioxidante, também observaram um efeito inibitório do uso do extrato de alecrim adicionado à carne de cordeiro, embalada em atmosfera modificada, no crescimento de bactérias psicrotróficas, em comparação com o controle de carne. Esse mesmo efeito foi observado por Quattara et al. (2001), no entanto, esses autores estudaram óleo essencial de alecrim puro.

Já Fernández-López et al. (2005), avaliaram a atividade antibacteriana dos extratos de alecrim em almôndegas de vitela. Os resultados mostraram uma maior atividade antibacteriana nos extratos de alecrim, quando comparados aos demais extratos estudados (laranja e limão). Segundo Gomez-Estaca et al. (2010), relataram que o alecrim inibiu o crescimento de bactérias alimentares comuns que contribuem para a deterioração dos alimentos.

De maneira geral, pode-se sugerir, com base nos resultados das análises microbiológicas da carne bovina *in natura*, que a água (controle) foi ineficaz, o controle com quitosana não teve um desempenho semelhante aos tratamentos onde havia a inclusão dos extratos de alecrim, esses, foram mais eficientes no controle do crescimento microbiano (Tabela 11), visto que nos últimos dias de contagens destas amostras, nos tratamentos mencionados foram os menores, sugerindo assim, melhor qualidade e uma boa estabilidade microbiológica do produto nas condições de realização dos experimentos.

## **6 CONCLUSÃO**

Diante do exposto, conclui-se que os revestimentos à base de quitosana e extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*), apresentaram influência na conservação e qualidade da carne bovina refrigerada, sendo o revestimento com menor concentração do extrato (4%) o mais indicado, pois possui o menor custo de produção e mantém a carne o mais próximo do natural.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHN, J.; GRÜN, I.U.; MUSTAPHA, A. Effects of plant extracts on microbial growth, color change and lipid oxidation in cooked beef. **Food Microbiol.** 24, 7–14, 2007.

ALISHAH, A. et al. Enhancement and Characterization of Chitosan Extraction from the Wastes of Shrimp Packaging Plants. **Journal of Polymers and the Environment**, 19(3), 776-783, 2011.

ALVES, H. C. **Avaliação dos efeitos de revestimentos naturais na conservação de carne bovina resfriada e embalada a vácuo.** 2015. 94p. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, 2015.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. E96-95: **Standard test methods for water vapor transmission of materials.** Philadelphia, 2010.

AMSA. **Meat color measurement guidelines.** American Meat Science Association. USA, 2, 100-101. 2012.

ANDRADE, I. H. P. et al. Estudo de documentos de patentes relacionados a produção de filmes biodegradáveis comestíveis. **Cadernos de Prospecção**, v. 11, p. 13, 2018.

AOAC – Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**, 17th ed. Gaithersburg, Maryland. 2005.

ARAÚJO, P. M. A. G. et al. Obtenção de filmes de quitosana para aplicação em engenharia de tecido. In: **Campina Grande: Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais.** 2012.

ASSIS, O. B. G.; ALBERTINI, L. L. Water Sorption of Chitosan films: Preliminary Study for Protective Coatings on Sliced Fruits. In: **Proceedings of the 4th ISNAPOL (Natural Polymers and Composites IV).** p. 390, 2009.

ASSIS, O. B. G.; BRITTO, D. edible protective coatings for fruits: fundamentals and applications. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 87-97, 2014.

ASSIS, O. B.G.; SILVA, V. L. da. Caracterização estrutural e da capacidade de absorção de água em filmes finos de quitosana processados em diversas concentrações. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 4, 2003.

BALDWIN, E. A.; NISPEROS, M. O.; BAKER, R. A. Crit. ReV. **Food Sci. Nutr.** 1995, 35, 509–524.

BARRETEAU, H. DELATTRE, C. MICHUD P. **Food Technology and Biotechnology**, 44(3), 323 (2006).

BATISTA J. A. **Desenvolvimento, Caracterização e Aplicações de Biofilmes a base de Pectina, Gelatina e Ácidos Graxos em bananas e sementes de brócolos.** 2004. 149 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

BOHÓRQUEZ, N.V.; ENCISO, N.A.A.; HERNÁNDEZ, W.A. Efeito do armazenamento sobre a cor de filmes de quitosana. **Polímeros**, [s.l.], v. 26, n. , p.25-36, 19 jan. 2016.

BONILLA, J.; SOBRAL, P. J. A. Antioxidant and antimicrobial properties of ethanolic extracts of guarana, boldo, rosemary and cinnamon. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017.

BORRÁS-LINARES, I. et al. Rosmarinus Officinalis Leaves as a Natural Source of Bioactive Compounds. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 15, n. 11, p.20585-20606, 10 nov., 2014.

BRASIL Ministério da Saúde. **Portaria n. 326 - 30 jul. 1997**. Aprova o regulamento técnico Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 2003.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004**. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, p. 25, 16 set. 2004. Seção 1.

BRASIL, RIISPOA. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura (RIISPOA)**. Ministério da Agricultura. Brasília-DF, 1981.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal do Ministério da Agricultura (RIISPOA)**. Rio de Janeiro, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos de alimentos**. Diário Oficial da União, Brasília, 2001.

CAMO, J.; BELTRÁN, J.A.; RONCALÉS, P. Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. **Meat Sci.** 80, 1086–1091, 2008.

CARDOSO, G. P. **Revestimentos comestíveis à base de gelatina, glicerina, quitosana e óleos essenciais para conservação de carne bovina refrigerada**. 2011. 220 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

CARDOSO, G.P. et al. Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display. **Meat Sci.** 114, 85–94, 2016.

CERQUEIRA, M. A. et al. Functional polysaccharides as edible coatings for cheese. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1456-1462, 2009.

CERQUEIRA, T. S. et al. Recobrimento de goiabas com filmes proteicos e de quitosana. **Bragantia**, [s.l.], v. 70, n. 1, p.216-221, 2011.

CIA, P. et al. Quitosana no controle pós-colheita da podridão mole em caqui 'rama forte'. **Bragantia**, [s.l.], v. 69, n. 3, p.745-752, 2010.

CONTE H. J. et al. Efeito do colágeno na maciez da carne de bovinos de distintos grupos genéticos. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 28, n. 1, 2006.

COSTA, L.C. Avaliação higiênico-sanitária e físico-química de carne in natura comercializada em Campo Mourão – PR. **Revista Uningá Review**, [S.l.], v. 33, n. 1, p. 55 - 65, mar. 2018.

CUNHA, A.G.; GANDINI, A. Turning polysaccharides into hydrophobic materials: a critical review. Part 2. Hemicelluloses, chitin/chitosan, starch, pectin and alginates. **Cellulose**, [s.l.], v. 17, n. 6, p.1045-1065, 1 ago. 2010.

DAVIDSON, P. M. Parabens and phenolic compounds. In P. M. Davidson & A. L. Branen (Eds.), **Antimicrobials in foods**, 263–306, 1993.

DEL CAMPO, J. et al. Antimicrobial effect of rosemary extracts. **Journal of Food Protection**, 63, 1359–1368, 2000.

DELAZARI, I. Microbiologia de carnes – microrganismos causadores de deterioração da carne e produtos cárneos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 49, p. 3-39, 1979.

DELLA TORRE, J. C. M. D.; BERAQUET, N. J. Composição centesimal e teor de colágeno em carne bovina moída. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 223-231, 2005.

DENAVI, G. et al. Effects of drying conditions on some physical properties of soy protein films. **J. Food Eng.**, v. 90, p. 341-349, 2009.

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

DURANGO, A. M.; SOARES, N. F. F.; ARTEAGA, M. R. Filmes y revestimientos comestibles como empaques activos biodegradables en la conservación de alimentos. **Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA**, v. 9, n. 1, p. 112-118, 2011.

DUTTA, J.; TRIPATHI, S.; DUTTA, P.k.. Progress in antimicrobial activities of chitin, chitosan and its oligosaccharides: a systematic study needs for food applications. **Food Science And Technology International**, [s.l.], v. 18, n. 1, p.3-34, 2011.

European Food Safety Authority (EFSA), **EFSA Journal**, 721, 1-29, 2008.

FANG, Y.Z.; Yang, S.; Wu, G. **Free radicals, antioxidants, and nutrition. Nutrition.**, 18, 872–879, 2002.

FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. et al. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: Application in beef meatballs. **Meat Sci.** 69, 371–380, 2005.



FOOD INGREDIENTS BRASIL (FIB). Agentes antimicrobianos químicos e naturais. **Food Ingrid. Bras.** 15:36-42, 2010.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2004.

FRENCH, P.; O'RIORDAN, E.G.; MONAHAN, F.J. et al. The eating quality of meat of steers fed grass and/or concentrates. **Meat Science**, v.57, p.379-386, 2001.

GENNADIOS, A.; WELLER, C. L.; HANNA, M. A.; FRONING, G. W. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 61, p. 585-589, 1996.

GEORGANTELIS, D. et al. Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on lipid oxidation and colour stability during frozen storage of beef burgers. **Meat Science**, v. 75 , p. 256–264, 2007.

GEORGANTELIS, D. et al. Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. **Meat Science**, v.76, p. 172-181, 2007.

GHANBARZADEH, B.; ALMASI, H.; ENTEZAMI, A. A. Improving the barrier and mechanical properties of corn starch-based edible films: effect of citric acid and carboxymethyl cellulose. **Industrial Crops and Products**, v. 33, n. 1, p. 229–235, 2011.

GOMES, M.F.F.; FURLANETTO, S.M. Grupos de bactérias isoladas a partir de amostra de fígado bovino. **Revista de Microbiologia**, v.18, n.4, p.335-343, 1997.

GÓMEZ-ESTACA, J. et al. Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation. **Food Microbiol.** 27, 889–896, 2010.

GONTARD, N.; DUCHEZ, C.; CUQ, J.L.; GUILBERT, S. Edible composite films of wheat gluten and lipids: water vapor permeability and other physical properties. **International Journal of Food Science and Technology**, v.29, n.1, p.39-50, 1994

GRUHN, E. Inulin-dietary fiber from chicory and fructose syrups processed thereof. **Food Process**, v.6, p.7, 1994.

GUERRA-SÁNCHEZ, M.G.; VEGA-PÉREZ, J.; VELÁZQUEZ-DEL VALLE, M.G. Antifungal activity and release of compounds on *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. by effect of chitosan with different molecular weights. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.93, p.18-22, 2009.

GUILBERT, S.; GONTARD, N.; CUQ, B. Technology and applications of edible protective films. **Packaging Technology and Science**, Malden, v. 8, n. 6, p. 339-346, 1995.

HAMM, R. Biochemistry of meat hydration. **Adv. Food Res.**, 10: 335-443, 1960.

HAN, J. H.; GENNADIOS A. Edible films and coatings: a review. In J. H. Han (Ed.)

ICMSF. **Ecologia microbiana de los alimentos 2. Productos Alimentícios**. Ed. Acribia, Saragoça, 989 p., 1985.

Innovations in food packaging. San Diego: **Elsevier Academic Press**, p. 239-262, 2005.

JAY, J. M. **Modern Food Microbiology**. Ed. Aspen Publishers, Gaithersburg, Maryland., 661 p., 1998.

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

JONSÄLL, A.; JOHANSSON, L.; LUNDSTRÖM, K. Sensory quality and cooking loss of ham muscle (M. biceps femoris) from pigs reared indoors and outdoors. **Meat Science**, Barking, Inglaterra, v.57, p.245-250, 2001.

KARAMANOLI, K. et al. Bacterial colonization of phyllosphere of mediterranean aromatic plants. **Journal of Chemical Ecology**, 26, 2035–2048, 2000.

KOŁODZIEJSKA, I; PIOTROWSKA, B. The water vapour permeability, mechanical properties and solubility of fish gelatin–chitosan films modified with transglutaminase or 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC) and plasticized with glycerol. **Food Chemistry**, v. 103, n. 2, p. 295-300, 2007.

KOOHMARAIE, M. Effect of castration on myofibrillar protein turnover, endogenous proteinase activities, and muscle growth in bovine skeletal muscle. **Journal of Animal Science**, v. 71, n. 2, p. 408-414, 1993.

KROCHTA, B.E.A.; NISPEROS-CARRIEDO, M. Edible Coatings and Films to Improve Food Quality. Pennsylvania, **Technomic**, 1994.

LABUZA, T.; BREENE, W. Application of active packing for improvement of shelf life and nutritional availability of fresh and extended shelf life in foods. **Journal of Food Processing and Preservation**, v.13, p.1-69, 1989.

LEE, Y., KIM, H. W., KIM, Y. H. B. New route of chitosan extraction from blue crabs and shrimp shells as flocculants on soybean solutes. **Food Science Biotechnology**, 27(2), 461–466, 2018

LIMA JÚNIOR, D. M. et al. Alguns aspectos qualitativos da carne bovina: uma revisão. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 5, n. 4, p. 351-358, 2012.

LIMA, A.M.F. Estudo de propriedades físico-químicas de alginato de sódio, pectina e blendas em solução e no estado sólido com aplicação em sistema de liberação de fármacos. 2006. 182 f. Dissertação (Doutorado em Química), Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2006.

LINARES, M. B. et al. Lipid oxidation in lamb meat: Effect of the weight, handling previous slaughter and modified atmospheres. **Meat Science**. 76: 715–720, 2007.

LIU, F., DAI, R., ZHU, J., LI, X. Optimizing color and lipid stability of beef patties with a mixture design incorporating with tea catechins, carnosine, and alfa-tocopherol. **Journal of Food Engineering**, v. 98, n. 2, p. 170–177, 2010.

LOIR, Y.LE; BARON, F.; GAUTIER, M. Staphylococcus aureus and food poisoning. **Genetic and Molecular Research**.v.2, n.1, p.63-76, 2003.

LOPES, F. A. et al. Desenvolvimento e caracterização de filmes de base celulósica incorporados com aldeído cinâmico/Development and characterization of cellulose-based films with cinnamaldehyde incorporated. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 1, p. 33, 2014.

LORENZO, J. M.; BATLLE, R.; GÓMEZ, M. Extension of the shelflife of foal meat with two antioxidant active packaging systems. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 181–188, 2014.

LUCHIARI FILHO, A. et al. Produção de carne bovina no Brasil qualidade, quantidade ou ambas. **Simpósio sobre desafios e novas tecnologias na bovinocultura de corte-SIMBOI**, v. 2, 2006.

MADSEN, H. L. et al. Screening of antioxidants between assays based on ESR spin trapping an electrochemical measurement of oxygen consumption. **Food Chem.**, 57(2): 331-337, 1996.

MAI, J.; SHIMP, J.; WEIHRAUCH, J.; KINSELLA, J. E. Lipids of fish fillets: changes following cooking by different methods. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, p. 1669-1674, 1978.

MALI, S. et al. Mechanical and thermal properties of yam starch films. **Food Hydrocolloids**, v. 19, n. 1, p. 157-164, 2005.

MARIUTTI, L.R.B.; BRAGAGNOLO, N. Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae. Aplicação em Produtos Alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, p. 96-103, 2007.

McHUGH, T.H.; KROCHTA, J.M. Sorbitol vs Glycerol-Plasticized Whey Protein Edible Films: Integrated Oxygen Permeability and Tensile Property Evaluation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 42(4):841-5, 1994a.

MELLO, M. L.; VIEIRA, S. L. Revestimentos comestíveis em frutas. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 8, n. 1, 2012.

MICHIELS, J. A. et al. Extraction conditions can greatly influence antioxidant capacity assays in plant food matrices. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 130, n. 4, p.986-993, fev. 2012.

MONSÓN, F.; SAÑUDO, C.; SIERRA, I. Influence of cattle breed and ageing time on textural meat quality. **Meat Science**, v.68, p.595-602, 2004.

MOURA, C. M. et al. Evaluation of molar weight and deacetylation degree of chitosan during chitin deacetylation reaction: used to produce biofilm. **Che. Eng. Process.**, v. 50, p. 351-355, 2011.

NERÍN, C. et al. Stabilization of beef meat by a new active packaging containing natural antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54:7840-7846, 2006.

NOSKOWA, G.G. **Microbiología de las carnes conservadas por el frío**. Ed. Acribia, Saragoça, 111 p., 1972.

NOTTINGHAM, P. M. Microbiology of carcass meats. In: BROWN, M. H. (Ed.) **Meat microbiology**. London: Appl.Sci. Publ., p. 13-66, 1982.

OJAGH, Seyed Mahdi et al. Development and evaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamon essential oil with low affinity toward water. **Food Chemistry**, v. 122, n. 1, p. 161-166, 2010.

OLIVEIRA, B.S.; NUNES, M.L. Avaliação de quitosana de caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*) como biofilme protetor em caju. **Scientia Plena**, v. 7, n. 4, p.2-6, 2011.

ORDONEZ, J. A. et al. **Tecnologia de alimentos: componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed. p. 33-49. 2005.

OSÓRIO, J.C.S.; OSÓRIO, M.T.M.; JARDIM, P.O.C. **Métodos para avaliação da produção de carne ovina: in vivo, na carcaça e na carne**. Pelotas: UFPel,1998.

OUATTARA, B.; SABATO, S.F.; LACROIX, M. Combined effect of antimicrobial coating and gamma irradiation on shelf life extension of pre-cooked shrimp (*Penaeus* spp.). **Int. J. Food Microbiol.** 68, 1–9, 2001.

PANDIT, V.A.; SHELEF, L.A. Sensitivity of *Listeria monocytogenes* to rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). **Food Microbiol.** 11, 57–63, 1994.

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2.ed. Goiânia: UFG, 2001. 623 p.

PARK, H. J. Edible coatings for fruits. In: JONGEN, W. W. F. (Ed.). **Fruit and vegetable processing: improving quality**. Boca Raton: CRC Press, p. 331-345, 2005.

PENG, Y., YUAN, J., LIU, F. E YE, J. Determinação de Componentes Ativos em Alecrim por Eletroforese Capilar com Detecção Eletroquímica. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 39, 431-437, 2005.

PENG, Y.; LI, Y. Combined effects of two kinds of essential oils on physical, mechanical and structural properties of chitosan films. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 287-293, 2014.

PERLO, F. et al. Refrigerated storage of pork meat sprayed with rosemary extract and ascorbic acid. **Ciência Rural**, v. 48, n. 4, 2018.

PINHEIRO, A. C. et al. Utilização de revestimentos/filmes edíveis para aplicações alimentares. **Boletim de Biotecnologia**, n. 85, p. 18-28, 2010.

PIRES, A. L. R. **Padronização da elaboração de membranas coacervadas de Xantana e quitosana para uso em curativos de lesões de pele.** In: XXI CIC UNESP IBILCE/UNESP – Campus de São José do Rio Preto, 2009.

RATHKE, T. D.; HUDSON, S. M. Review of Chitin and Chitosan as Fiber and Film Formers. **Reviews Journal. of Macromolecules**, v. 34 , p. 375-437, 1994.

REALINI, C. E. et al. Spanish, French and British consumers' acceptability of Uruguayan beef, and consumers' beef choice associated with country of origin, finishing diet and meat price. **Meat Science**, v. 95, n. 1, p. 14-21, 2013.

ROÇA, R. O. **Composição química da carne.** Botucatu: FCA-UNESP, 2012a (artigo técnico). Disponível em: <http://www.fca.unesp.br/Home/Instituicao/Departamentos/Gestaoetecnologia/Teses/Roca102.pdf>. Acesso em: 19 dez. 2018.

RODRÍGUEZ, A.; BATLLE, R.; NERÍN, C. The use of natural essential oils as antimicrobial solutions in paper packaging. Part II. **Progress in Organic Coatings**, v. 60, n. 1, p. 33–38, 2007.

RUIZ-RAMÍREZ, J. et al. Relationship between water content, NaCl content, pH and texture parameters in dry-cured muscles. **Meat Science**, Barking, Inglaterra, v.71, n.4, p.579-587, 2005.

SANTANA, M. C. C. B. et al. Incorporação de urucum como aditivo antioxidante em embalagens biodegradáveis a base de quitosana. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.43, n.3, p.544-550, mar, 2013.

SAÑUDO, C. et al. Carcass and meat quality in light lambs from different fat classes in EU carcass classification system. **Meat Sci.** v.56:89-94, 2000.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L.; ANTONIO, J.T. Vegetais minimamente processados. In: OLIVEIRA, L.M. (Ed.) **Requisitos de proteção de produtos em embalagens plásticas rígidas.** Campinas, SP: TAL/CETEA, 2006.

SEYFERT, M. et al. Color stability, reducing activity, and cytochrome c oxidase activity of five bovine muscles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n.23, p.8919-8925, 2006.

SHIMOKOMAKI, M. et al. **Atualidades em Ciência e Tecnologia de Carnes**, São Paulo: Varela, 2006.

SILVA, A. S. et al. Effect of chitosan coating on contamination of fresh bovine meat sold in the open market. **Revista Ciência Agronômica**, v. 50, n. 1, p. 38-43, 2019.

SILVA, M. G. et al. Caracterização de filmes à base de quitosana. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 3, p. 1710-1715, 2015.

SILVA, N.V. et al. Características de carcaça e carne ovina: uma abordagem das variáveis metodológicas e fatores de influência. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 2, n. 4, p. 103-110, 2008.

SOARES, K.A. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extrato de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*) sobre bactérias gram negativas e gram positivas. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 17, n. 4, 2013.

SOARES, K.M.P. et al. Qualidade microbiológica de carne bovina comercializada na forma de bife. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v. 22, n. 3-4, p. 206-210, jul./dez. 2015.

SOARES, N. F. F. *et al.* Uso de revestimento comestível e conservação pós-colheita de goiaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 281-289, 2011.

SOUZA, B.W.S. et al. Effect of moderate electric fields in the permeation properties of chitosan coatings. *Food Hydrocolloids*, v. 23, p. 2110–2115, 2009.

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

TONGNUANCHAN, P.; BENJAKUL, S.; PRODPRAN, T. Comparative studies on properties and antioxidative activity of fish skin gelatin films incorporated with essential oils from various sources. **International Aquatic Research**, v. 6, n. 2, p. 62, 2014.

TROY, D.J.; KERRY, J.P. Consumer perception and the role of science in the meat industry, **Meat Science**. V.86, n.1, p. 214-226, 2010.

TURHAN, K. N. Is edible coating an alternative to MAP for fresh and minimally processed fruits? **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 876, n. 1, p. 299-305, 2010.

VAUDAGNA, S. R. et al. Sous vide cooked beef muscles: effects of low temperature-long time (LT-LT) treatments in their quality characteristics and storage stability. **International Journal of Food Science & Technology**, Oxford, v. 37, n. 4, p. 425-441, 2002.

VEIGA, S.P. et al. Mechanical properties, hydrophilicity and water activity of starch-gum films: effect of additives and deacetylated xanthan gum. **Food Hydrocolloids**, Wrexham, v.19, p.341- 349, 2005.

WOLF, K.L. Propriedades físico-químicas e mecânicas de biofilmes elaborados a partir de fibra e pó de colágeno. 101f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2007.

WU, Y. et al. Moisture loss and lipid oxidation for precooked beef patties stored in edible coatings and films. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 65, n. 2, p. 300-304, Feb. 2000.

ZARPELON, F. **Preparação, Caracterização e Aplicação de Filmes Finos de PAH/PAA com Nanopartículas de Prata no Tratamento Microbiológico de Efluentes Industriais para Reuso**. 2013. 81f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2013.

ZEOLA, N.M.B.L. Conceitos e parâmetros utilizados na avaliação da qualidade da carne ovina. **Revista Nacional da Carne**. v.304:36-56, 2002.