

FRANCELINE APARECIDA LOPES

**DESENVOLVIMENTO DE EMBALAGENS ATIVAS E SUA
AVALIAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE PRODUTOS DE
PANIFICAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

FRANCELINE APARECIDA LOPES

**DESENVOLVIMENTO DE EMBALAGENS ATIVAS E SUA
AVALIAÇÃO NA CONSERVAÇÃO DE PRODUTOS DE
PANIFICAÇÃO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 14 de maio de 2007.

Prof^a Mônica Ribeiro Pirozi
(Co-Orientador)

Prof. Fabyano Fonseca e Silva

Prof. Renato Cruz

Pesq. Cláudia Lúcia de Oliveira Pinto

Prof^a Nilda de Fátima Ferreira Soares
(Orientadora)

Aos meus pais, Francisco e Francisca.
Ao meu noivo, Leandro.
Aos meus irmãos, Franciano, Pablo e Francemir.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela sabedoria e por sempre guiar meus passos.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade, e ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

À minha família, pelo apoio, pelo incentivo, pela confiança, pela compreensão e pela disposição de ajudar.

Ao meu noivo, pela força, pelo apoio, pelo carinho e também por sua ajuda.

À professora Nilda de Fátima Ferreira Soares, pela orientação, pela dedicação e pelo apoio.

Aos professores Nélio José de Andrade e Mônica Ribeiro Pirozi, pelo aconselhamento e pelo apoio.

Ao professor Renato Cruz, por suas sugestões e considerações.

Ao professor Fabyano Fonseca e Silva, pela ajuda e pelas considerações.

À Cristiane, pela dedicação e pelo apoio, ao seu namorado, Eduardo, pela ajuda nos momentos mais apertados, e, pelo mesmo motivo, ao Felipe, à Geanny e à Michele.

Ao José Carlos (Juninho), Washington e Nathália, pela ajuda com os equipamentos – vocês foram fundamentais.

A Joesse, Ana Clarissa, Maria Paula, Paula, Márcia, Manoela, Germana, Diego, Victor, Lina, Eduardo, Alan, Iasmyne e aos colombianos Paula, Jhon, Delimiro e Juan, pela amizade, pela alegria, pelo apoio, pelos conselhos e pela agradável convivência no Laboratório de Embalagens.

Aos amigos Keise, Leonardo, Vitor, Gleides e Keila, pela ajuda – vocês foram demais.

A todos os amigos, inclusive aos da Igreja Adventista, pelo companheirismo, pela torcida, pelo incentivo e pelas orações.

Aos professores e funcionários do Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela dedicação e amizade.

Ao Supermercado Escola, pela concessão do espaço e pela colaboração.

Recentemente, à CEDAF (Universidade Federal de Viçosa – Campus Florestal), pelo apoio ao término deste trabalho.

E por fim, a todos que contribuíram para que este trabalho se realizasse com sucesso.

BIOGRAFIA

FRANCELINE APARECIDA LOPES, filha de Francisco dos Santos Lopes e Francisca Saquêto Lopes, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, em 12 de julho de 1980.

Graduou-se em Engenharia de Alimentos em janeiro de 2005, pela Universidade Federal de Viçosa.

Em março de 2005, iniciou o Programa de Pós-Graduação, em nível de Mestrado, em Ciência e Tecnologia de Alimentos na Universidade Federal de Viçosa.

Desde agosto de 2006, exerce o cargo de professora na Universidade Federal de Viçosa – Campus Florestal.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE BASE CELULÓSICA E SACHÊ INCORPORADOS COM ALDEÍDO CINÂMICO	3
RESUMO	3
1. INTRODUÇÃO.....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Conservação de alimentos.....	4
2.2. Embalagens ativas.....	5
2.3. Antimicrobianos naturais.....	10
2.4. Aldeído cinâmico.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1. Preparo dos filmes	14
3.2. Preparo do sachê.....	15
3.3. Avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes e dos saches	15
3.3.1. Avaliação dos filmes – Teste do halo.....	15
3.3.2. Avaliação dos saches	16

	Página
3.4. Determinação da espessura dos filmes	17
3.5. Análise das propriedades mecânicas do filme	17
3.6. Determinação da permeabilidade dos filmes ao vapor d'água	18
3.7. Avaliação das características microscópicas dos filmes	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
4.1. Filmes antimicrobianos	18
4.2. Sachê antimicrobiano	26
5. CONCLUSÕES	27
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
APLICAÇÃO DE FILMES ANTIMICROBIANOS INCORPORADOS COM ALDEÍDO CINÂMICO NA CONSERVAÇÃO DE PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO	34
RESUMO	34
1. INTRODUÇÃO	35
2. REVISÃO DE LITERATURA	36
2.1. Conservação de alimentos	36
2.2. Produtos de panificação	37
2.3. Massas frescas	38
3. MATERIAL E MÉTODOS	40
3.1. Preparo dos filmes	40
3.2. Preparação da massa de pastel	40
3.3. Preparação dos pães	40
3.4. Montagem do experimento com a massa de pastel	41
3.5. Montagem do experimento com o pão	41
3.6. Análises microbiológicas	42
3.7. Análises físico-químicas	42
3.7.1. Quantificação do aldeído cinâmico	42
3.7.2. Análise do pH	43
3.7.3. Análise da atividade de água (aw)	43
3.7.4. Avaliação da textura dos pães – teste de compressão	43
3.8. Delineamento estatístico	44
3.9. Análise sensorial	44
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
4.1. Experimento com pães	45
4.2. Experimento com massa de pastel	51

	Página
5. CONCLUSÕES.....	56
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
2. CONCLUSÃO GERAL	60

RESUMO

LOPES, Franceline Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, maio de 2007. **Desenvolvimento de embalagens ativas e sua avaliação na conservação de produtos de panificação.** Orientador: Nilda de Fátima Ferreira Soares. Co-orientadores: Nélio José de Andrade e Mônica Ribeiro Pirozi.

Embalagens ativas são desenvolvidas no sentido de modificar características sensoriais e microbiológicas do produto embalado. As embalagens antimicrobianas atuam na inibição ou redução da microbiota contaminante dos alimentos para conservar o produto durante as fases de estocagem e de comercialização e assegurar ao consumidor a aquisição de um produto saudável. Este trabalho teve como objetivos desenvolver filmes e sachês incorporados com aldeído cinâmico e avaliar suas eficiências na conservação de massa de pastel e de pães de canela, ambos sem adição de conservante na formulação, para assegurar sua qualidade microbiológica e assim promover o aumento na vida de prateleira do produto. Os filmes e sachês antimicrobianos foram desenvolvidos com a incorporação de aldeído cinâmico nas concentrações de 5, 10 e 20% v/p. Foram avaliadas as atividades de inibição do crescimento *in vitro* para as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* e para os fungos *Fusarium oxysporum* e *Aspergillus flavus*, na presença do filme e do sachê. Foram avaliadas também as propriedades mecânicas dos filmes. Os

filmes apresentaram melhor efeito inibitório, comparado ao dos sachês. Para todos os microrganismos testados, com exceção de *E. coli*, foram observados halos de inibição que apresentaram aumento proporcional ao aumento da concentração de aldeído cinâmico no filme. A espessura média dos filmes avaliados, independentemente da concentração de aldeído cinâmico, foi de 32,47 µm e a média de deformação relativa na carga máxima dos filmes foi de 2,05% a 8 °C e 1,73% a 25 °C. O filme com 10% de aldeído cinâmico apresentou carga máxima de deformação de 108,267 N, valor significativamente ($p < 0,05$) menor que os valores constatados para os filmes-controle (0 %) e a 5 %. Posteriormente, os filmes antimicrobianos incorporados com 5 e 10% de aldeído cinâmico foram então intercalados em massas de pastel com 10 cm de diâmetro e também usados para envolver amostras de pães. Avaliaram-se a eficiência antimicrobiana, a migração do aldeído cinâmico para o produto e a sua aceitação pelo consumidor. Como controle foi usado filme sem adição do antimicrobiano. Os sistemas foram acondicionados em sacos de polietileno de baixa densidade (PEBD). Os sacos que continham massa de pastel foram armazenados a 8 ± 2 °C e analisados com 0, 5, 10, 30 e 60 dias de armazenamento, e aqueles contendo os pães foram armazenados à temperatura de 23 ± 2 °C e analisados após 0, 3, 6, 9 e 12 dias. Os pães, inicialmente, apresentaram contagem de coliformes $< 1,0 \times 10^1$ UFC.g⁻¹ e as massas de pastel, contagem de coliformes $< 1,0 \times 10^1$ UFC.g⁻¹, *Bacillus. cereus* $< 1,0 \times 10^2$ UFC.g⁻¹ e *Staphylococcus* spp. coagulase positiva $< 1,0 \times 10^2$ UFC.g⁻¹, em todos os tempos de armazenamento. Nas amostras de pães os filmes foram eficientes na inibição do crescimento de mesófilos aeróbios e de fungos filamentosos e leveduras, uma vez que na amostra-controle foi constatado aumento de quatro ciclos log no crescimento de ambos após 12 dias de estocagem. Nas amostras de pastel houve reduções de dois e três ciclos log para mesófilos aeróbios e *Staphylococcus* spp., respectivamente, para os filmes com 5 e 10 % de aldeído cinâmico, ao fim dos 60 dias de armazenamento. A contagem de fungos filamentosos e de leveduras permaneceu abaixo de $1,0 \times 10^2$ UFC.g⁻¹) durante estocagem, para as amostras intercaladas com os filmes antimicrobianos. Em todas as avaliações os valores de pH e de atividade de água não influenciaram os

resultados. A migração do aldeído cinâmico para o produto influenciou a aceitação das massas de pastel, em comparação à massa-controle, mas não influenciou a aceitação dos pães, possivelmente pela menor quantidade de aldeído cinâmico detectada nas amostras de pães. Ambos os produtos foram bem aceitos e as médias ficaram entre gostei ligeiramente (6) e gostei moderadamente (7).

ABSTRACT

LOPES, Franceline Aparecida, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, May of 2007. **Developed of the active packaging and it's evaluation to bakery products conservation.** Adviser: Nilda de Fátima Ferreira Soares. Co-Advisers: Nélio José de Andrade and Mônica Ribeiro Pirozi.

Active Packaging has been developed in an effort to modify sensory and microbiologic characteristics of the packaged product quality. Antimicrobial packaging acts inhibiting or reducing the contaminated microbiota of the food, seeking to conserve the product during the storage and commercialization periods, assuring to the consumer acquisition of a healthy product. This work aimed to develop films and sachets incorporated with cinnamaldehyde and evaluate it's efficiencies in turnover dough and cinnamon bread, both without addition of food additives. Antimicrobial films and sachets were developed with cinnamaldehyde incorporation in 5, 10, and 20 % v/w concentrations. Tests of growth inhibition halo were realized with *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Fusarium oxysporum* and *Aspergillus flavus* in the film and sachet presence. Mechanical properties of the films were also evaluated. Films showed better inhibitory effect than sachets for all tested microorganisms, excepting *E. coli*. Inhibition halos increased as the cinnamaldehyde concentration increased in the film. Average film thickness was 32.47 μm , and the relative deformation

at the maximum stress were 2.0507 % in 8 °C and 1.7282 % in 25 °C, independently cinnamaldehyde concentration. Film with 10% cinnamaldehyde showed maximum deformation (108.267 N) significantly ($p < 0.05$) less than control films (0 %) and 5 %. To verify the efficiency of the films in contact with foods the antimicrobial films incorporated with 5 and 10 % cinnamaldehyde were intercalated between turnover dough with 10 cm of diameter and also to involve breads. They were evaluated the antimicrobial efficiency, the cinnamaldehyde migration to the product and the sensory analysis. Film control (without cinnamaldehyde) was used. The systems were packed in low density polyethylene (LDPE) bags. The bags with turnover dough were stored at a 8 ± 1 °C and the analysis occurred after 0, 5, 10, 30 and 60 storage days and those with bread were stored at 23 ± 2 °C and analyzed after 0, 3, 6, 9 and 12 days. Initially, the breads showed coliforms counting of $<1.0 \times 10^1$ UFC.g⁻¹ and the turnover dough had *Bacillus cereus* counting of $<1.0 \times 10^2$ UFC.g⁻¹, coliforms $<1.0 \times 10^1$ UFC.g⁻¹ and *Staphylococcus* spp positive coagulase $<1.0 \times 10^2$ UFC.g⁻¹ in all tested times. The breads samples involved with the antimicrobial films showed efficiency in inhibition growth of mesophilic aerobes and fungi and yeast once compared to the control sample that presented an increase of 4 log growth cycles after 12 days of storage. The turnover dough had 2 and 3 log cycles reduction for mesophilic aerobes and *Staphylococcus* spp. respectively, to 5 and 10 % films at the end of 60 storage-days. The fungi counting stayed under 1.0×10^2 UFC.g⁻¹ throughout storage period for the turnover dough samples intercalated with antimicrobial films. The pH values and water activity did not show any influence in the result of all evaluations. The cinnamaldehyde migration to the product had influence in the turnover dough acceptance than the control dough, but didn't have influence in the bread acceptance, possibly due to the lower cinnamaldehyde quantity in the bread samples than the turnover dough samples. Both products were well accepted and the obtained average stayed between lightly liked (6) and moderately liked (7).

1. INTRODUÇÃO GERAL

A produção de alimentos seguros e de boa qualidade nutritiva e sensorial é meta prioritária para as indústrias alimentícias. Além da aplicação de boas práticas higiênico-sanitárias, faz-se necessário também o acondicionamento do produto em embalagens adequadas, para proteger e conservar o produto durante as fases de estocagem e de comercialização e para assegurar ao consumidor a aquisição de um produto saudável.

O uso de embalagem que possa interagir diretamente com o produto alimentício, no sentido de modificar características para a melhoria da qualidade do produto embalado, tem crescido acentuadamente na última década. Essas embalagens são denominadas ativas, e entre vários exemplos podem ser citados filmes antimicrobianos, filmes antioxidantes, sachês absorvedores de etileno, de oxigênio, de umidade e sachês indicadores de controle de temperatura.

A tecnologia para controle de microrganismos indesejáveis por meio da incorporação ou adição de substâncias antimicrobianas em superfícies das embalagens tem recebido atenção em vários países, e pesquisas têm sido realizadas em produtos de laticínios, utensílios de cozinha, materiais higiênicos, filtros de tratamento de água e materiais de embalagem.

Entre os antimicrobianos disponíveis no mercado para uso em alimentos, aqueles obtidos de fontes naturais têm recebido atenção especial,

devido às mudanças de hábito do consumidor, que estão cada vez mais buscando produtos saudáveis.

O aldeído cinâmico, um composto natural extraído da casca da canela, é uma substância flavorizante muito utilizada nas indústrias farmacêutica e alimentícia, sendo aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) e considerado *Generally Recognized As Safe* (GRAS). Esse composto também apresenta atividade antimicrobiana comprovada quando aplicado diretamente em suspensões de vários microrganismos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* e *Aspergillus flavus*.

Assim, este trabalho teve por objetivos principais desenvolver filmes e sachês incorporados com aldeído cinâmico e avaliar suas eficiências na conservação de massa de pastel e em pães de canela, ambos sem adição de conservante na formulação, visando assegurar sua qualidade microbiológica e promover o aumento na vida de prateleira do produto.

Objetivos específicos

1. Produzir filmes flexíveis de base celulósica antimicrobianos, a partir da incorporação de aldeído cinâmico em sua estrutura.
2. Produzir sachês a partir de resina de alta absorção, incorporada com aldeído cinâmico.
3. Avaliar a eficiência antimicrobiana *in vitro* dos filmes e sachês, avaliando-os na presença de diferentes microrganismos e em diferentes temperaturas de estocagem.
4. Avaliar a vida de prateleira de massa de pastel e de pão artesanal de canela em contato com os filmes antimicrobianos.
5. Avaliar a migração do aldeído cinâmico dos filmes antimicrobianos para o produto.
6. Avaliar sensorialmente a aceitação do pão e da massa de pastel em contato com o filme, durante o tempo de estocagem.
7. Avaliar as propriedades mecânicas e microscópicas dos filmes produzidos.

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE BASE CELULÓSICA E SACHÊ INCORPORADOS COM ALDEÍDO CINÂMICO

RESUMO

Filmes e sachês antimicrobianos foram desenvolvidos com a incorporação de aldeído cinâmico nas concentrações de 5, 10 e 20 %. Foram avaliadas suas atividades de inibição do crescimento para as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* e para os fungos *Fusarium oxysporum* e *Aspergillus flavus*. As propriedades mecânicas dos filmes também foram avaliadas. Constatou-se que os filmes apresentaram melhor efeito inibitório que os sachês. Para as bactérias, à exceção de *E. coli*, e para os fungos filamentosos avaliados, foram observados halos de inibição que aumentaram proporcionalmente ao aumento da concentração de aldeído cinâmico no filme. No caso de *E. coli*, não foi observado halo de inibição pelos filmes, no entanto houve diminuição de células ao redor do filme. A espessura média dos filmes utilizados, independentemente da concentração, foi de 32,47 μm e a média de deformação relativa na carga máxima dos filmes foi de 2,0507% a 8 °C e 1,7282 % a 25 °C. O filme contendo 10 % de aldeído cinâmico apresentou carga máxima de deformação de 108,267 N (Newton), significativamente menor ($p < 0,05$) que os filmes com 0 e 5 %. Os resultados mostraram que o uso de filmes e sachês incorporados com aldeído cinâmico é uma alternativa para o controle do crescimento de microrganismos.

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, com as exigências dos consumidores, as indústrias alimentícias trabalham para buscar tecnologias que atentam às novas exigências do mercado, que incluem segurança microbiológica, qualidades sensoriais e nutricionais dos produtos alimentícios.

O setor de embalagens, por sua vez, possui papel fundamental para manutenção da qualidade na cadeia produtiva, de forma a oferecer proteção contra fatores de deterioração externos, como luz e oxigênio, e internos, como ação de microrganismos.

Com o intuito de aumentar a proteção oferecida pelas embalagens, uma nova linha de pesquisa tem crescido consideravelmente, que é a interação direta com o produto alimentício alterando características não-desejadas. Essas embalagens são denominadas ativas, e entre vários exemplos podem ser citados os filmes antimicrobianos, os filmes antioxidantes, os sachês absorvedores de etileno, de oxigênio e de umidade e as etiquetas indicadoras de variação de temperatura.

Os filmes e sachês antimicrobianos possibilitam a redução ou remoção dos aditivos adicionados aos alimentos e a incorporação do aditivo diretamente na matriz polimérica da embalagem.

São inúmeros os antimicrobianos naturais encontrados; como exemplos podem ser mencionados a quitosana, obtida a partir da carapaça de crustáceos; enzimas como a lisozima; bacteriocinas como a nisina e a pediocina, derivadas de vegetais como o alil-isotiocianato (AIT) e o aldeído cinâmico; e os ácidos orgânicos, como o ácido sórbico, ácido propiônico, ácido benzóico, ácido acético, ácido láctico e ácido málico.

A incorporação de aldeído cinâmico em filmes poliméricos não é reportada em pesquisas ou em aplicações para produtos alimentícios.

Assim, o presente trabalho teve por objetivos desenvolver filmes antimicrobianos de base celulósica e sachês incorporados com aldeído cinâmico e avaliar sua atividade antimicrobiana *in vitro*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Conservação de alimentos

Os alimentos, quer sejam industrializados ou não, apresentam constantes alterações de natureza química, física, microbiológica ou enzimática, o que pode levar à perda de qualidade e à redução da vida de prateleira. Entre estas alterações, a de maior preocupação com a segurança dos consumidores é a de natureza microbiológica.

Vários surtos de infecção e intoxicação causados pelos alimentos são registrados, associados a microrganismos como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp.,

Clostridium perfringens, entre outros (PADHYE e DOYLE, 1992; NADVORNY *et al.*, 2004; PINTO *et al.*, 2004; RAPINI *et al.*, 2005).

Para produtos industrializados, os processos de conservação têm papel importante na manutenção da qualidade, com base na redução ou inibição dos microrganismos capazes de alterar o alimento, ou na modificação ou eliminação de um ou mais fatores intrínseco e extrínseco que são essenciais para a sua multiplicação, de modo que o alimento não se torne propício ao desenvolvimento microbiano.

Alguns processos, como a esterilização e a pasteurização, agem diretamente na inativação total ou parcial da população microbiana; outros utilizam meios que dificultam a multiplicação microbiana, como o emprego do frio ou a redução do teor de umidade, que pode ser conseguida diretamente por meio de concentração, secagem e desidratação, ou indiretamente com o emprego do sal e do açúcar. Processos como a irradiação, o emprego de altas pressões, o uso de substâncias antimicrobianas, entre outros, também são empregados pelas indústrias de alimentos, como mecanismos de ação sobre a microbiota do alimento.

Há uma grande disponibilidade de substâncias antimicrobianas aprovadas para uso como aditivos em alimentos. Porém, na escolha do antimicrobiano devem ser considerados o tipo de alimento, o método de processamento, o armazenamento e o microrganismo envolvido, assim como outras propriedades, como solubilidade, pKa, concentrações tóxicas e reatividade química do composto antimicrobiano (JAY, 1995). Diferentes compostos de uma mesma classe podem diferir na atividade antimicrobiana, e nas suas propriedades físicas e químicas. Frequentemente, a forma salina dos ácidos orgânicos é mais solúvel em água e é a preferida para situações em que a solubilidade em água é importante (ARAÚJO, 1995).

2.2. Embalagens ativas

O interesse pelo desenvolvimento de pesquisas que envolvem o conceito de embalagens ativas para alimentos aumentou consideravelmente nos últimos anos. Essas embalagens conferem uma função adicional em relação às embalagens passivas tradicionais, que protegem o alimento

somente contra fatores alteradores externos, como a umidade e o oxigênio (CONTE *et al.*, 2007).

Várias pesquisas em embalagens ativas têm sido desenvolvidas no Laboratório de Embalagem da Universidade Federal de Viçosa, objetivando o desenvolvimento de filmes e sachês antimicrobianos com aplicação em diversos produtos, como vegetais, salsicha, queijo coalho e queijo muçarela (GERALDINE, 2000; MELO, 2002, 2003; SILVEIRA, 2005; PIRES, 2006).

Outras tecnologias como embalagens com atmosfera modificada, embalagens inteligentes e embalagens ativas são estudadas para melhorar o desempenho das embalagens e atender às diversas demandas. Essas tecnologias inovadoras contribuem para a qualidade e segurança do alimento com menor quantidade de aditivos, o que reduz, portanto, desperdícios, intoxicações e infecções por alimentos e reações alérgicas (AHVENAINEN, 2003).

Embalagem ativa é um conceito inovador que combina avanços na tecnologia de alimentos, produção de alimentos seguros, embalagens e ciências dos materiais em um esforço para melhor atender às exigências do consumidor por alimentos mais frescos e seguros (MATAN *et al.*, 2006).

Rooney (1995) define embalagem ativa como aquela que não apenas separa o alimento do meio ambiente, mas que interage com o alimento para manter suas propriedades. Soares (1998) conceituou como ativas as embalagens que interagem com o alimento e, desta forma, modificam alguma propriedade, com os objetivos de possibilitar o processamento de alimentos seguros, melhorar a qualidade sensorial e ampliar a vida de prateleira do produto.

As principais substâncias usadas no estudo de embalagens ativas são os absorvedores de oxigênio, absorvedores de etileno, absorvedores de umidade, liberadores de antioxidantes, liberadores e, ou, absorvedores de aromas, imobilizadores de enzimas e substâncias antimicrobianas (VERMEIREN *et al.*, 1999).

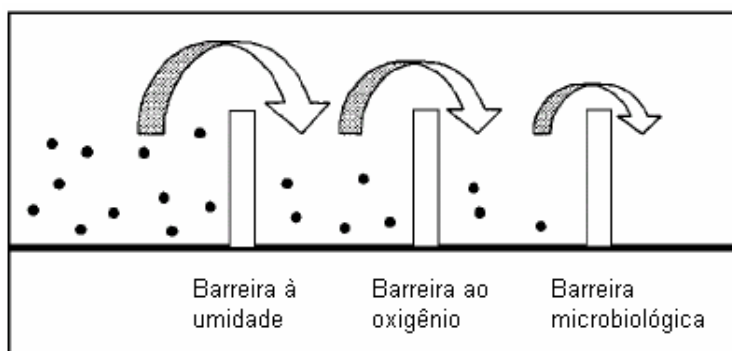
As embalagens antimicrobianas possuem as características de reduzir, inibir ou retardar o crescimento de microrganismos presentes no alimento embalado ou na própria embalagem e que podem ser responsáveis

pela deterioração do alimento (APPENDINI e HOTCHKISS, 2002; CONTE *et al.*, 2007).

Segundo Appendini e Hotchkiss (2002), embalagens antimicrobianas podem se apresentar de diversas formas, incluindo:

- sachê, almofada contendo agentes antimicrobianos voláteis dentro da embalagem;
- filmes incorporados de agentes antimicrobianos voláteis e não-voláteis diretamente no polímero;
- revestimento do antimicrobiano sobre a superfície do polímero;
- imobilização de antimicrobianos ao polímero por ligações iônicas ou covalentes; e
- polímeros que são inerentemente antimicrobianos.

O princípio básico de atuação desse tipo de embalagem está inserido dentro do princípio da tecnologia de barreiras, que combina métodos de conservação para o controle da população microbiana dos alimentos. A embalagem ativa incorporada de substâncias antimicrobianas atua como uma barreira extra, a microbiológica, além das barreiras físicas, como a umidade e o oxigênio (Figura 1) (HAN, 2003).

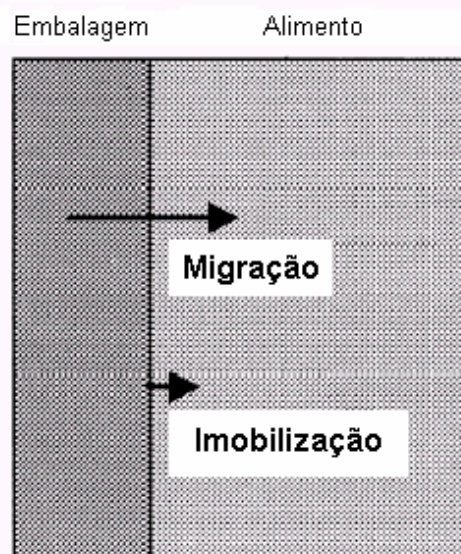


Fonte: Han (2003).

Figura 1 – Sistema de embalagem antimicrobiana.

A adição de agentes antimicrobianos nos filmes poliméricos pode ser feita de duas maneiras: por incorporação e por imobilização. No primeiro caso, há liberação gradual do agente antimicrobiano para o alimento, enquanto na imobilização o composto atua somente na superfície, pois o

antimicrobiano está ligado ao polímero por ligações iônicas ou covalentes, não permitindo sua liberação (Figura 2).



Fonte: Han (2003).

Figura 2 – Diferença entre incorporação e imobilização de agentes antimicrobianos em filmes poliméricos.

A liberação de aditivos por embalagens ativas aumenta a segurança do consumidor, já que esses compostos não são diretamente adicionados ao alimento, mas liberados de maneira controlada, com isso estão presentes em menores quantidades e apenas onde sua presença é requerida, como na superfície do produto, onde a maior parte das deteriorações ocorre (APPENDINI e HOTCHKISS, 2002).

Outra vantagem dos sistemas de embalagens ativas está relacionada ao fato de que alguns agentes antimicrobianos adicionados ao alimento podem perder parcialmente sua atividade, em virtude da composição do produto, portanto seu efeito na superfície do alimento pode ser limitado. Desta forma, a utilização de embalagens ativas pode assegurar melhor eficácia do composto bactericida ou bacteriostático, por apresentar migração lenta do agente da embalagem para o alimento, o que auxilia na manutenção de concentrações mais altas na superfície do produto (QUINTAVALLA e VICINI, 2002).

Alguns fatores como a solubilidade e o tamanho da molécula do antimicrobiano, as características dos alimentos às condições de estocagem e distribuição, em que se incluem tempo e temperatura, o método de preparo do filme, ou seja, extrusão ou *casting*, e a interação entre antimicrobiano e polímero podem afetar a efetividade da embalagem antimicrobiana (HAN, 2003).

Em diversos estudos a eficiência e aplicabilidade das embalagens antimicrobianas, inclusive incorporadas com antimicrobianos naturais, foram constatadas.

Ouattara *et al.* (2000) avaliaram a inibição de bactérias em carne processada com aplicação de filme antimicrobiano preparado com quitosana e adicionado de ácido propiônico, láurico e acético e aldeído cinâmico. Os resultados demonstraram que o crescimento de bactérias da família *Enterobacteriaceae* e de *Serratia liquefaciens* foi tardio ou completamente inibido com a aplicação dos filmes, principalmente no filme de quitosana adicionado de aldeído cinâmico.

Melo *et al.* (2002) incorporaram lactato de sódio em filme celulósico e constataram a eficiência do filme obtido na inibição de mesófilos em superfície de salsichas. O produto foi envolvido com o filme antimicrobiano e acondicionado sob vácuo em filme multicamada e, então, estocado sob refrigeração. Após 21 dias de estocagem as amostras em presença do filme com lactato apresentaram redução de quatro ciclos logarítmicos, comparadas com as amostras envolvidas com o filme sem lactato (controle). Melo (2003), em seu estudo com filme de acetato incorporado de nisina para embalagem de queijo coalho, obteve redução de dois ciclos log de células de *Staphylococcus aureus*, comparado ao controle, após cinco dias de estocagem.

Conte *et al.* (2007) analisaram a atividade antimicrobiana de filmes incorporados de lisozima imobilizada e verificaram que o filme obtido foi efetivo e inibiu o crescimento de *Micrococcus lysodeikticus* e que a atividade antimicrobiana do filme estava associada à enzima imobilizada. Os resultados também demonstraram que a eficiência do filme aumenta com o aumento da quantidade de enzima ligada.

Silveira (2005) avaliou o efeito antimicrobiano de um filme de base celulósica incorporado com ácido sórbico para conservação de massa de pastel em duas espessuras diferentes, 25 e 70 µm e 7 e 3% de ácido sórbico, respectivamente, e constatou que após 40 dias de estocagem as massas apresentaram redução de dois ciclos log na contagem de mesófilos aeróbios, em ambos os tratamentos.

2.3. Antimicrobianos naturais

A procura dos consumidores por alimentos mais saudáveis tem incentivado as indústrias de alimentos a buscarem antimicrobianos naturais para serem utilizados em substituição aos sintéticos.

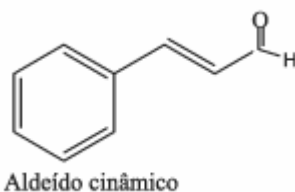
Existem inúmeros agentes antimicrobianos presentes nos animais, nas plantas e nos microrganismos, envolvidos no seu mecanismo de defesa. Esses compostos podem funcionar como antimicrobianos nos alimentos, quando utilizados como ingredientes naturais ou como aditivos (NAIDU, 2000). Exemplos típicos de compostos investigados são lactoperoxidase, lisozima, saponinas e flavonóides, bacteriocinas e quitosana (DEVLIEGHERE *et al.*, 2004).

Malo *et al.* (2005) avaliaram a atividade de diversos antimicrobianos naturais na inibição do crescimento de *Aspergillus flavus* e verificaram que este fungo apresentou alta sensibilidade aos compostos fenólicos como timol, eugenol e carvacrol. O aumento da concentração desses antimicrobianos aumentou a fase lag do *A. flavus*.

Weissinger *et al.* (2001) avaliaram a capacidade de compostos naturais voláteis de inibir o crescimento de *Salmonella* spp. em brotos e sementes de alfafa e observaram que o ácido acético, o aldeído cinâmico e o timol provocaram redução significativa na população de *Salmonella* spp., após 7 horas de exposição a esses compostos, a 60 °C.

2.4. Aldeído cinâmico

Descoberto em 1884 por Dumas e Péligot, o aldeído cinâmico (Figura 3) é encontrado na casca das árvores da canela (*Cinnamomum*



Fonte: Simas *et al.* (2004).

Figura 3 – Fórmula estrutural do aldeído cinâmico.

zeylanicum) e de outras espécies do gênero *Cinnamomum*, como a cânfora (*Cinnamomum camphora*) e a cássia (*Cinnamomum cassia*). O óleo essencial extraído da casca da canela contém cerca de 90% de aldeído cinâmico, que é o responsável pelo aroma característico da canela. É uma substância oleosa, amarelada e viscosa, com um odor intenso e adocicado. O aldeído cinâmico é aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para uso em alimentos como uma substância flavorizante e adjuvante e é considerado *Generally Recognized As Safe* (GRAS) nos Estados Unidos pelo *Flavor and Extract Manufacturers' Association* (KIRK-OTHMER, 2001). A maior parte desta substância é excretada na urina sob a forma de ácido cinâmico, uma forma oxidada do aldeído cinâmico. O aldeído cinâmico em produtos cosméticos, quando presente em altas doses, > 5 % p/v, pode ser irritante para a pele (MANZUR *et al.*, 1995), no entanto não há suspeita de que ele seja cancerígeno ou que o seu uso continuado represente um perigo para a saúde.

O aldeído cinâmico também pode ser encontrado com as denominações cinamal, cinamaldeído, fenilacroleína, 3-fenil-2-propenal, 3-fenil-2-propen-1-al, 'cassia aldehyde'. Sua fórmula empírica é C_9H_8O .

Pode ser sintetizado por via química a partir de acetaldeído e de benzaldeído, por reação de condensação aldólica. No entanto, economicamente é mais viável a sua extração da casca da canela, por meio de destilação por arrastamento de vapor.

É usado principalmente para conferir sabor e aroma de canela a alimentos e bebidas e fragrância de canela a produtos médicos, cosméticos e perfumes, sendo também usado como estimulante da função digestiva. Em

alimentos e bebidas, é encontrado em concentrações que variam de 7,7 mg.kg⁻¹ em sorvetes a 6.400 mg.kg⁻¹ em frutas e sucos (HOOTH *et al.*, 2004). O aldeído cinâmico também já foi avaliado quanto às suas propriedades como repelente animal e como agente antifúngico (KIRK-OTHMER, 2001).

Como agente antifúngico, os resultados de experimentos descritos por Sivakumar *et al.* (2002) demonstram que 30 mg.kg⁻¹ de aldeído cinâmico inibiram completamente o crescimento micelial e a germinação de conidia de *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Gliocephalotrichum microchlamydosporum*, os quais causam doenças pós-colheita, como putrefação de talo, antracnose e mancha-marrom, respectivamente, em frutos de rambutan (*Nephelium lappaceum* L.). Quando folhas secas saturadas de aldeído cinâmico na concentração de 30 mg.kg⁻¹ eram usadas em embalagens comerciais, a incidência e a severidade de todas as três doenças foram reduzidas. As frutas tratadas retiveram cor, qualidade global e características sensoriais a 13,5 °C e 95 % UR durante 14 dias.

Jham *et al.* (2005) identificaram o aldeído cinâmico como o principal componente fungicida de óleo de casca de canela por meio de análises por cromatografia gasosa-espectrometria de massa. Os extratos de casca de canela obtidos por extração com hexano e por hidrodestilação apresentaram inibição completa de crescimento (CICC) para *Aspergillus flavus* na concentração de 300 e 100 µL.L⁻¹, respectivamente.

Cheng *et al.* (2006) avaliaram a atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de nove diferentes árvores de canela indígena (*Cinnamomum osmophloeum* Kaneh), coletadas em Taiwan, e demonstraram que dois dos óleos essenciais avaliados apresentaram maior concentração de aldeído cinâmico e também maior atividade antifúngica para os fungos filamentosos, *Lenzites betulina*, *Trametes versicolor* e *Laetiporus sulphureus*, que os demais óleos essenciais considerados. Os autores concluíram que o aldeído cinâmico foi o responsável pela atividade antifúngica, uma vez que esta atividade era afetada diretamente pela concentração de aldeído cinâmico presente no óleo.

O efeito bactericida do aldeído cinâmico também foi avaliado para diferentes patógenos, como *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella* spp. (KWON *et al.*, 2003), e constatou-se que *B. cereus* apresentou maior sensibilidade. Quando as células foram tratadas com 0,3 mL.L⁻¹ do aldeído cinâmico, a contagem foi reduzida cerca de seis ciclos log, após 6 horas de incubação.

Weissinger *et al.* (2001) verificaram que o aldeído cinâmico foi efetivo para seis sorotipos de *Salmonella* em sementes de alfafa, quando aplicado em ar quente, a 50 °C, pela técnica de fumigação. No entanto, verificaram que o aumento da temperatura para 70°C reduziu a efetividade do tratamento, o que pode ser associado à estabilidade térmica do composto. Friedman *et al.* (2000) puderam observar que o aldeído cinâmico se decompõe a benzaldeído a temperaturas próximas de 60 °C, quando aquecido isoladamente, mas quando combinado com eugenol ou óleo de folhas de canela o aldeído cinâmico permaneceu estável após 30 minutos de aquecimento, a 200 °C.

Valero e Giner (2006) avaliaram a ação do aldeído cinâmico em extrato de cenoura minimamente processada e observaram que a concentração de 5 µL.100 mL⁻¹ foi suficiente para prevenir o desenvolvimento de *B. cereus* por mais de 60 dias, à temperatura de armazenamento de 16 °C, sem afetar as características sensoriais do extrato.

A ação do aldeído cinâmico em combinação com outros antimicrobianos também foi avaliada. Moleyar e Narasimham (1992) observaram que a mistura de aldeído cinâmico e eugenol na proporção de 250 e 500 µg.mL⁻¹, respectivamente, inibiu completamente o crescimento de *Staphylococcus* sp., *Micrococcus* sp., *Bacillus* sp. e *Enterobacter* sp. por mais de 30 dias, enquanto as substâncias aplicadas isoladamente não inibiram o crescimento.

A atividade antimicrobiana do aldeído cinâmico também foi testada sobre o crescimento de estirpes de *E. coli* O157:H7. Kim *et al.* (2004) observaram que na presença de 1.000 µg.mL⁻¹ de aldeído cinâmico a maioria das células de *E. coli* não se apresentou viável, após 2 horas de incubação. Observações realizadas em microscópio eletrônico revelaram que as células tratadas com aldeído cinâmico apresentaram danos severos

na estrutura superficial. A concentração mínima inibitória do aldeído cinâmico determinada foi de 250 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ em estipes de *E. coli* O157:H7 e *E. coli* O26 ou de 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ em *E. coli* ATCC11105 e *E. coli* O111.

A atividade antibacteriana do aldeído cinâmico é associada a diversos fatores, como interação com a membrana celular, o que provoca o rompimento suficiente da membrana para dispersar a força protomotora através da passagem de pequenos íons e inibição da captação de glicose ou inibição da glicólise (GILL e HOLLEY, 2004; HOLLEY e PATEL, 2005). Wendakoon e Sakaguchi (1995) constataram que para *Enterobacter aerogenes* o aldeído cinâmico inibe a enzima descarboxilase da célula. Gill e Hollley (2006) verificaram que para *E. coli* and *L. monocytogenes* o aldeído cinâmico inibiu a ação da ATPase. Acredita-se que o grupamento aldeído seja responsável, em parte, pela atividade antimicrobiana do aldeído cinâmico.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Embalagens do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

3.1. Preparo dos filmes

Os filmes foram produzidos pelo método *casting* (utilização de solvente), de acordo com a metodologia descrita por Soares (1998). Foram preparados três filmes de base celulósica, incorporados com 5, 10 e 2% v/p de aldeído cinâmico (Sigma-Aldrich, São Paulo-SP), em relação ao peso da matriz polimérica. Paralelamente, foi preparado um filme-controle, sem adição de antimicrobiano (0 %).

Os filmes, após completa evaporação do solvente, foram separados por folhas de papel branco e armazenados à temperatura ambiente, para análises posteriores.

3.2. Preparo do sachê

O aldeído cinâmico foi incorporado em polímero de alta absorção, nas concentrações de 5, 10 e 20% v/p. Foi produzido também um sachê-controle, sem adição de aldeído cinâmico (0%). A mistura, polímero e aldeído cinâmico, foi armazenada em tubo de ensaio hermeticamente fechado e mantido a 25 °C, por 1 hora. Após a incorporação, o material foi selado em um tecido-não-tecido (TNT), nas dimensões 4 x 4 cm, o que permitiu a volatilização do composto antimicrobiano quando fixado no interior das embalagens.

3.3. Avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes e dos sachês

Para avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes e dos sachês foram utilizadas duas bactérias gram-positivas, *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Listeria monocytogenes* (ATCC 153113), uma bactéria gram-negativa, *Escherichia coli* (ATCC 11229) e dois fungos filamentosos, *Fusarium oxysporum* e *Aspergillus flavus*.

Para avaliar a inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, foram utilizados os meios de cultura, *Agar Baird Parker*, *Oxford*, *Violet Red Bile Agar* (VRB), respectivamente, quando o filme foi utilizado, e *Agar TSA (Tryptic Soy Agar)*, quando o sachê foi utilizado, e *Potato Dextrose Agar* (BDA), para fungos filamentosos.

Os meios foram vertidos em placas de Petri, em duplicata, e após solidificação foram inoculados com 0,1 mL das respectivas culturas previamente ativadas e padronizadas para número de células aproximado de 10^4 UFC.mL⁻¹ (MELO, 2003).

3.3.1. Avaliação dos filmes – Teste do halo

Os filmes foram cortados em círculos de 1 cm de diâmetro e esterilizados em câmara com lâmpada de UV (Prodicil, 110 V, 254 nm), 254 nm, por 10 minutos. Em seguida, três pedaços de filme, um controle e

dois com mesma concentração (Figura 4), foram colocados, assepticamente, em placa de Petri previamente inoculada com bactéria ou fungo-teste. As placas inoculadas com as bactérias foram incubadas a 37 °C, por 48 horas, e as placas inoculadas com fungo a 25 °C, por 72-120 horas.

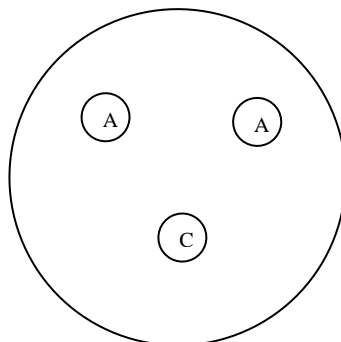


Figura 4 – Disposição dos discos na placa de Petri: A) mesma concentração e C) controle (sem antimicrobiano).

O teste também foi realizado, para todos os microrganismos, a 11 °C, até a formação de colônias.

Após o período de incubação, o diâmetro dos halos formados ao redor do filme foi medido com o auxílio de uma régua. Todas as placas foram elaboradas em duplicatas.

3.3.2. Avaliação dos sachês

As placas previamente inoculadas com os microrganismos a serem avaliados foram seladas dentro de sacos plásticos PE/Nylon, junto com o sachê (Figura 5). Foram testadas duas temperaturas de incubação, 25 e 11 °C, até a formação de colônias.

Após o período de incubação, foi avaliado o crescimento dos microrganismos-teste nas diferentes concentrações de aldeído cinâmico.

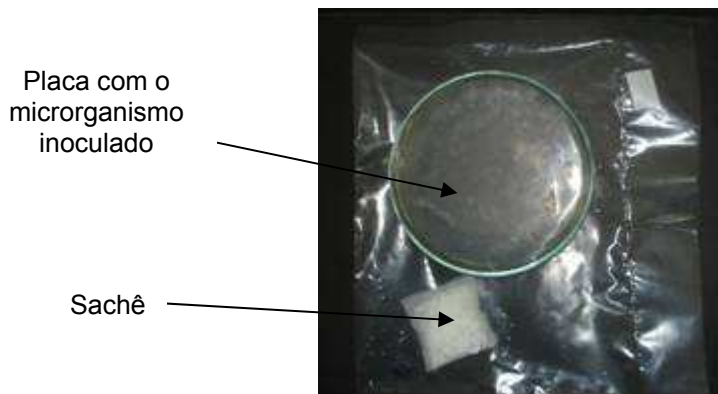


Figura 5 – Sistema ilustrativo contendo placa inoculada e sachê.

3.4. Determinação da espessura dos filmes

A média da espessura dos filmes foi obtida de dez amostras de cada filme, com o auxílio de um micrômetro Mitutoyo (0- 25 mm). A avaliação foi conduzida em delineamento inteiramente casualizado, e os resultados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey, pelo emprego do programa SAS, versão 8.0 (SAS, 1996).

3.5. Análise das propriedades mecânicas do filme

Amostras dos filmes foram cortadas em retângulos de 2,5 cm de largura por 15 cm de comprimento e acondicionadas a 23 ± 2 °C/ $50 \pm 5\%$ UR, por 24 horas. As propriedades mecânicas dos filmes foram medidas por meio do determinador universal de teste (INSTRON série 3367), com carga de 1 kN e velocidade de $50,8 \text{ cm.min}^{-1}$.

Foram determinadas a carga máxima e a deformação relativa na carga máxima a 8 e a 25 °C, em 15 amostras de cada filme.

As avaliações dessas características foram conduzidas em delineamento inteiramente casualizado, em um esquema fatorial (3x2), três concentrações e duas temperaturas, com 15 repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey, com o emprego do programa SAS, versão 8.0 (SAS, 1996).

3.6. Determinação da permeabilidade dos filmes ao vapor d'água

A permeabilidade dos filmes ao vapor d'água foi determinada segundo Oliveira *et al.* (1996). Foram utilizados filmes com 50 cm² em dessecadores com solução saturada de NaCl (75 % UR), a 25 °C. As pesagens foram realizadas durante 15 dias, e foram realizadas três repetições. No primeiro dia foram realizadas pesagens de 2 em 2 horas, durante 6 horas, e nos dias seguintes, pesagens com intervalos de 24 horas. A permeabilidade foi determinada pela declividade da curva resultante da plotagem peso x tempo e expressa em g.m⁻².dia⁻¹.

A avaliação foi conduzida em delineamento inteiramente casualizado, e os resultados de permeabilidade foram obtidos para os diferentes tratamentos, submetidos à análise de variância e ao teste de Tukey, com o emprego do programa SAS versão 8.0 (SAS, 1996).

3.7. Avaliação das características microscópicas dos filmes

A avaliação das características da superfície dos filmes foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), no Núcleo de Microscopia e Microanálise do Centro de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Viçosa.

Cupons de 20 x 50 mm² dos filmes de cada tratamento foram cortados e fixados, com o auxílio de fita dupla-face, em "stubs". As amostras foram cobertas com 20 nm de ouro em Metalizador Balzers FDU 010, e posteriormente, observadas e fotografadas em microscópio eletrônico de varredura LEO 1430 VP (POSTER *et al.*, 1980).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Filmes antimicrobianos

No filme antimicrobiano incorporado de 5 % de aldeído cinâmico, observou-se a formação de um halo de 1,5 cm para *Aspergillus flavus*

enquanto para as concentrações de 10 e 20 % não foi observado crescimento desse microrganismo (Figura 6).

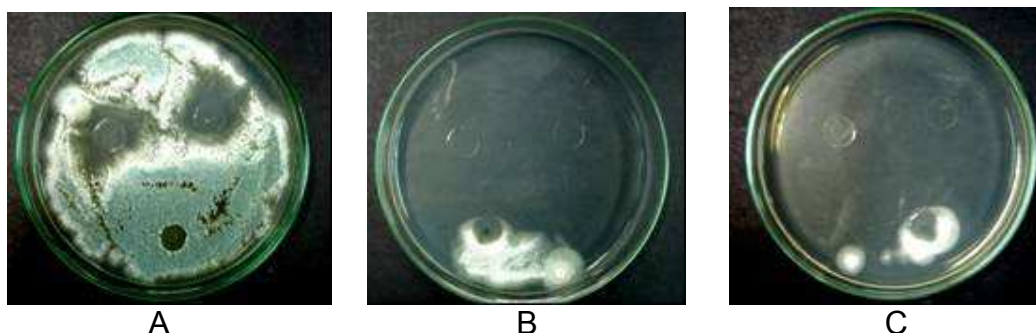


Figura 6 – Inibição do crescimento de *Aspergillus flavus* em torno dos filmes incorporados de 5 % (A), 10 % (B) e 20 % (C) de ácido cinâmico, após 120 horas de incubação, a 25 °C.

O efeito antimicrobiano do aldeído cinâmico também foi verificado por Jham *et al.* (2005). Ao fracionarem extrato de óleo de casca de canela, observaram que uma das frações continha 99,1% de aldeído cinâmico, e ao testarem a sua eficiência na inibição do crescimento de *Aspergillus flavus* verificaram 100 % de redução do crescimento ao aplicarem o extrato na concentração de 200 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$.

Observou-se inibição completa do crescimento de *Fusarium oxysporum* em torno dos filmes ativos nas três concentrações testadas, após 120 horas (Figura 7). Nas placas que continham filmes com 20 % de aldeído cinâmico, constatou-se a inibição do microrganismo inclusive ao redor do filme-controle. Neste caso, pode ter ocorrido uma difusão do aldeído cinâmico a partir dos filmes 20% em uma concentração suficiente para inibir o crescimento dos fungos filamentosos em toda a placa.

O aldeído cinâmico é descrito em diversos trabalhos de pesquisa como um excelente agente antifúngico. Sivakumar *et al.* (2002) verificaram inibição completa do crescimento dos fungos filamentosos *Botryodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloeosporioides* e *Gliocephalotrichum microchlamydosporum* com a aplicação de uma solução aquosa de aldeído cinâmico de concentração de 30 ppm a 28 °C. O teste foi realizado em placas de Petri, adicionando um micélio do fungo desejado no



Figura 7 – Inibição do crescimento de *Fusarium oxysporum* em torno dos filmes 5% (A), 10% (B) e 20% (C), após 120 horas de incubação, a 25°C.

centro da placa e a solução do aldeído cinâmico através de papel-filtro. Cheng *et al.* (2006) também constataram a presença de atividade antifúngica do óleo essencial de folhas de canela contra *Lenzites betulina*, *Trametes versicolor* e *Laetiporus sulphureus*, e atribuíram a atividade antifúngica do óleo à presença de aldeído cinâmico.

Nas placas inoculadas com *Staphylococcus aureus*, foi observada inibição de crescimento em todas as concentrações avaliadas, com formação de halos de 3,5, 5 e 4,5 cm para as concentrações de 5, 10 e 20%, respectivamente (Figura 8). Kwon *et al.* (2003), ao testarem o efeito antimicrobiano do aldeído cinâmico contra a bactéria patogênica *S. aureus*, verificaram 70 % de redução do crescimento na presença de 0,4 ml.L⁻¹ de aldeído cinâmico adicionado diretamente na suspensão de célula em caldo BHI.

O crescimento de *Listeria monocytogenes* foi inibido ao redor dos filmes antimicrobianos e houve apenas diferenciação no crescimento de células entre as diferentes concentrações, ou seja, maior crescimento nas placas com filme 5 % e menor naquela com filme 20 % (Figura 9). Em torno do filme-controle, foi observado crescimento do microrganismo em todas as placas.

Yamazaki *et al.* (2004) também constataram inibição do crescimento de *Listeria monocytogenes* com a aplicação do aldeído cinâmico diretamente na suspensão de células. A inibição do crescimento foi dada em função

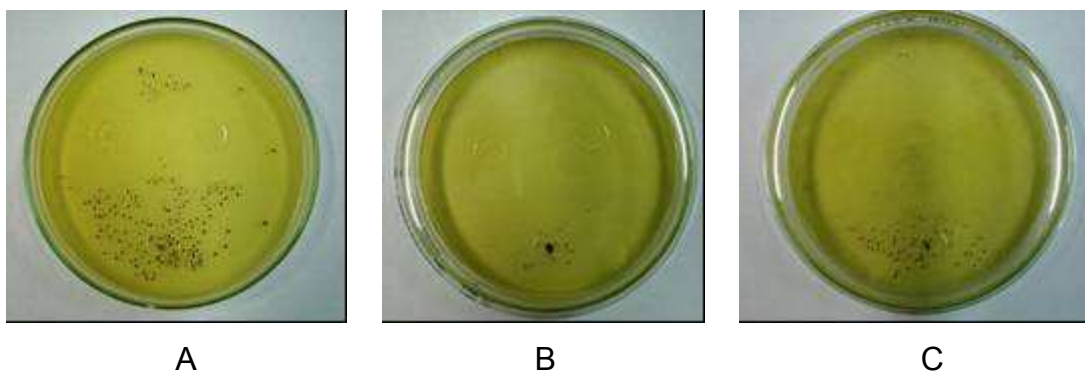


Figura 8 – Inibição do crescimento de *Staphylococcus aureus* em torno dos filmes 5 % (A), 10 % (B) e 20 % (C), após 48 horas de incubação, a 37 °C.

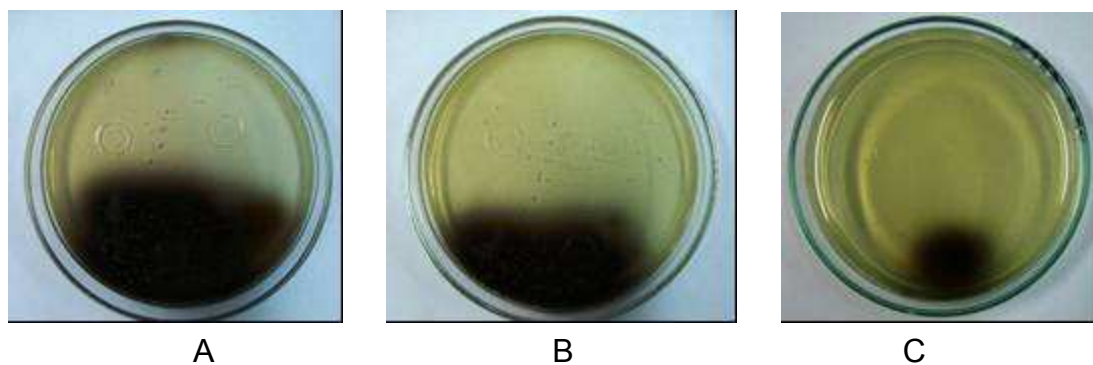


Figura 9 – Inibição do crescimento de *Listeria monocytogenes* após 48 horas de incubação, a 37 °C, em contato com os filmes 5 % (A), 10 % (B) e 20 % (C).

da absorbância da suspensão, e observou-se que a inibição maior ocorreu a partir da adição de 0,05% (v/v) de aldeído cinâmico.

Para *Escherichia coli* não houve formação do halo de inibição do crescimento nos filmes testados. Entretanto, houve diferenciação de concentração do crescimento (Figura 10). Pôde-se constatar que no local de contato do filme com o ágar não houve crescimento de colônias, concluindo-se que não ocorreu difusão do aldeído cinâmico em quantidades suficientes no ágar utilizado.

Toledo (2000) afirmou que a formação de halo de inibição está relacionada com a difusão do antimicrobiano e com a velocidade de crescimento do microrganismo e que estes fatores sofrem influência do estado fisiológico da cultura indicadora e da composição do ágar. Além

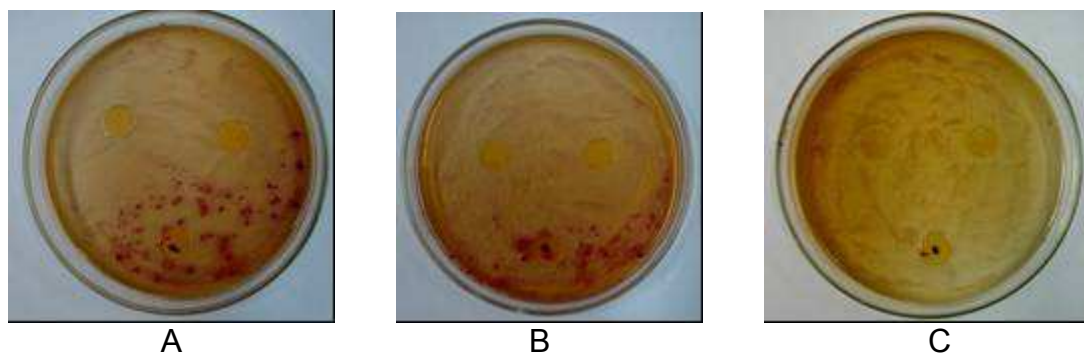


Figura 10 – Crescimento de *Escherichia coli* após 48 horas de incubação, a 37°C, em contato com os filmes 5% (A), 10% (B) e 20% (C).

disso, Cagri *et al.* (2001) afirmaram que há influência da estrutura química e do número de ligações cruzadas dos filmes.

A diferença entre os resultados pode, portanto, estar relacionada com a diferença de difusão do aldeído cinâmico entre os diferentes meios de cultura. Melo (2003) avaliou a eficiência do filme incorporado com nisina pelo teste do halo em diferentes meios de cultura, *Plate Count Agar* (PCA), *Agar Brain Heart Infusion* (BHI) e *Agar Baird-Parker*. *Staphylococcus sp.*, inoculado em Baird-Parker, apresentou a formação de halo maior, seguido dos meios PCA e BHI. O autor atribuiu essa diferença à composição dos meios, uma vez que os meios PCA e BHI possuem maior disponibilidade de nutrientes, o que permite maior velocidade de crescimento do microrganismo, comparado à velocidade de difusão da nisina para o meio de cultura.

Comparando as duas temperaturas de inibição testadas, observou-se que não houve diferença entre os halos de inibição obtidos com a temperatura de refrigeração e a temperatura ótima de crescimento do microrganismo. No entanto, à temperatura de refrigeração o crescimento foi mais lento. Assim, a visualização de células de *S. aureus* ocorreu após dois dias de incubação para a temperatura de 37 °C e após dez dias para a temperatura de 11 °C.

Na avaliação da atividade antimicrobiana dos filmes, observou-se maior eficiência sobre os fungos filamentosos. Entre as bactérias constatou-se maior eficiência antimicrobiana do aldeído cinâmico sobre bactérias gram-

positivas. Segundo Delaquis *et al.* (2002), as razões para a maior resistência das bactérias gram-negativas a compostos antimicrobianos naturais hidrofóbicos não estão ainda totalmente esclarecidas. No entanto, essa diferença pode estar relacionada a diferenças da membrana celular desses dois grupos de bactérias. As bactérias gram-negativas possuem uma membrana externa constituída de lipopolissacarídeos que apresentam baixa permeabilidade e não permitem a difusão de compostos hidrofóbicos (NIKAIDO, 1989).

Apesar dos resultados satisfatórios alcançados com o filme na concentração de 20% de aldeído cinâmico, quanto à ação antimicrobiana, em testes preliminares foi constatado que nessa concentração os filmes usados na embalagem de produtos de panificação provocaram sabor e odor muito fortes de canela, o que afetou as características sensoriais do produto. Portanto, os testes posteriores foram realizados apenas com os filmes nas concentrações de 5 e 10%.

A concentração de aldeído cinâmico não afetou significativamente ($p \geq 0,05$) a espessura dos filmes, que apresentaram valor médio de 32,47 μm , e não afetou também, independentemente da temperatura, a sua deformação relativa (Tabela 1). No entanto, a carga máxima de deformação (N) foi afetada em ambas as temperaturas testadas, tendo sido observado que o filme adicionado de 10 % de aldeído cinâmico apresentou carga máxima de deformação significativamente ($p < 0,05$) menor (108,267 N) que a dos filmes 0 % (122,073 N) e 5 % (120,581 N), os quais não apresentaram diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre si (Tabela 2). A diminuição da carga máxima de deformação com o aumento da concentração do aditivo incorporado, apesar da porcentagem de deformação constante, também foi verificada por Limjaroen *et al.* (2003) e Silveira (2005), e segundo Appendini e Hotchkiss (2002) as propriedades do polímero são influenciadas para cada combinação antimicrobiano-polímero.

A temperatura de determinação das propriedades mecânicas do filme, por sua vez, influenciou significativamente ($p < 0,05$) os valores de deformação e os valores de carga máxima verificados para os três filmes. Os filmes a 8 °C apresentaram maior deformação (%) e carga máxima (N), comparados aos filmes avaliados a 25 °C (Tabela 3). Em geral, a elevação

Tabela 1 – Deformação relativa na carga máxima de filmes com diferentes concentrações de aldeído cinâmico a 8 °C (A) e a 25 °C (B)

		Deformação relativa na carga máxima (%)	
		8 °C	25 °C
Filme	Temperatura		
	0 %	2,017 a	1,650 a
	5 %	2,209 a	1,775 a
	10 %	1,927 a	1,759 a

Médias de tratamentos em uma mesma coluna, seguidas de mesma letra, não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Tabela 2 – Carga máxima (N) de deformação de filmes com diferentes concentrações de aldeído cinâmico a 8 °C (A) e a 25 °C (B)

		Carga máxima de deformação (N)	
		8 °C	25 °C
Filme	Temperatura		
	0 %	125,1774 a	118,9691 a
	5 %	123,9622 a	117,1993 a
	10 %	109,6005 b	106,9329 b

Médias de tratamentos em uma mesma coluna, seguidas de mesma letra, não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Tabela 3 – Média dos valores de carga máxima (N) e deformação relativa na carga máxima (%) dos filmes a 8 e 25 °C

Temperatura	Carga máxima média (N)		Deformação média (%)
8 °C	119, 580	A	2,0507
25 °C	114,367	B	1,7282

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

da temperatura aumenta a flexibilidade dos filmes flexíveis em função de maior movimentação das cadeias, o que diminui a força necessária para o seu arrebentamento (ROBERTSON, 1993).

Os filmes de base celulósica incorporados com aldeído cinâmico apresentaram carga máxima (N) quase duas vezes maior que a dos filmes de polietileno de baixa densidade, que necessitam, em média, 57,51 N de

carga máxima para deformação. Já em relação à deformação média, os filmes antimicrobianos apresentaram deformação quase cinco vezes menor. A deformação média de filmes de polietileno de baixa densidade está em torno de 10,33%. Portanto, os filmes de base celulósica incorporados com aldeído cinâmico podem ser considerados mais resistentes que um filme de polietileno de baixa densidade.

As variações na resistência entre os filmes que contêm aldeído cinâmico podem ser verificadas por meio da observação das imagens dos filmes obtidas por microscopia (Figura 11). No filme com 10 % de aldeído cinâmico (Figura 11C), pode-se observar menor uniformidade na matriz polimérica, comparado aos outros dois filmes, o que leva ao maior distanciamento entre as cadeias do polímero e exige, assim, menor força de carga para obter a mesma deformação.

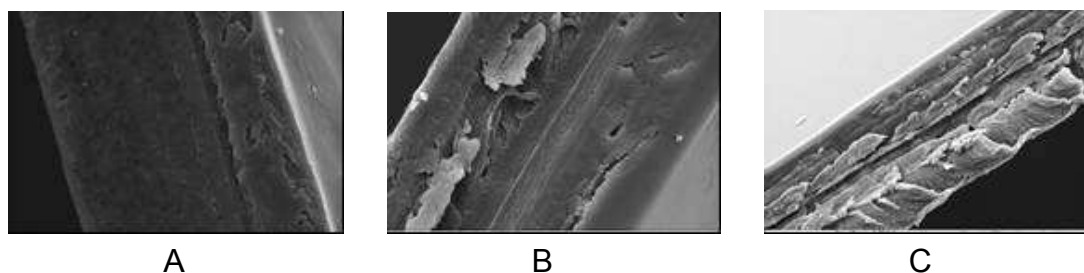


Figura 11 – Fotomicrografias dos filmes adicionados de 0% (A), 5% (B) e 10% (C) de aldeído cinâmico obtidas pela microscopia eletrônica de varredura.

Essa diferença na conformação polimérica pode ser associada à hidrofobicidade do aldeído cinâmico em relação à base celulósica, o que diminui a interação matriz polimérica – aldeído cinâmico.

Os resultados observados de permeabilidade ao vapor d'água estão representados na Tabela 4. Observou-se diminuição da permeabilidade ao vapor d'água com o aumento da concentração do aldeído cinâmico. A difusão das moléculas de água através do filme é dificultada pela presença do aldeído cinâmico e pela sua hidrofobicidade. Diferença significativa ($p \leq 0,05$) foi observada entre as amostras-controle (0%) e 10%.

Tabela 4 – Permeabilidade ao vapor d'água dos filmes adicionados de 0, 5 e 10% de aldeído cinâmico

Filme	Taxa de permeabilidade (g.m ⁻² .dia ⁻¹)
0 %	10,48
5 %	8,92 b
10 %	8,28

Espessura média dos filmes: 32,47 µm; e umidade relativa: 75%.

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si a de 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

4.2. Sachê antimicrobiano

O sachê com aldeído cinâmico apresentou efeito inibitório sobre o crescimento dos fungos testados, tendo a maior ação ocorrida sobre *Fusarium oxysporum* (Figura 12). A atividade antimicrobiana do sachê foi proporcional ao aumento da concentração de aldeído cinâmico. Constatou-se, ainda, maior eficiência sobre os fungos na área lateral da placa de Petri próxima ao sachê. Supõe-se que a quantidade de composto volátil liberada pelo sachê não foi suficiente para preencher todo o volume do saco plástico e, portanto, para atingir a concentração mínima para inibição em toda a placa.

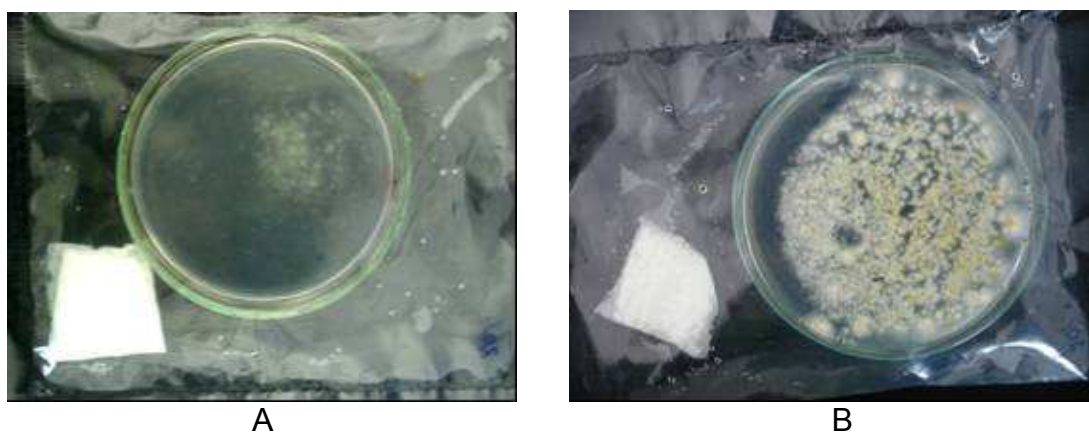


Figura 12 – Efeito inibitório de sachê antimicrobiano contendo 20% de aldeído cinâmico no crescimento de *Fusarium oxysporum* (A) e *Aspergillus flavus* (B).

A ação antibacteriana do sachê não foi verificada para as bactérias testadas, conforme o exemplo na Figura 13, para *Staphylococcus aureus*. Provavelmente, esse fato ocorreu ou devido à não-penetração do volátil para dentro da placa ou à penetração de baixa concentração, que não foi suficiente para a inibição do crescimento das bactérias testadas.

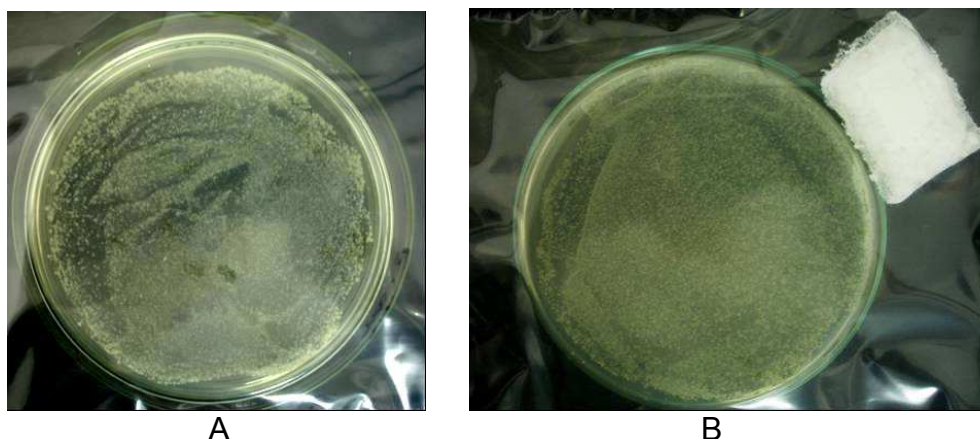


Figura 13 – Crescimento de *Staphylococcus aureus* em ágar TSA na placa-controle (A) e no sistema com sachê antimicrobiano incorporado de 20% de aldeído cinâmico (B), após 48 horas de incubação a 37°C.

5. CONCLUSÕES

Os filmes desenvolvidos apresentaram melhor atividade antimicrobiana, comparados aos sachês, para os microrganismos testados. Sugere-se que adequações sejam realizadas no sachê incorporado com aldeído cinâmico.

Os filmes apresentaram ação antimicrobiana, principalmente sobre os fungos *Aspergillus flavus* e *Fusarium oxysporum* e sobre as bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, corroborando com outros autores que usaram o aldeído cinâmico em vários microrganismos.

Os filmes não diferiram significativamente ($p \geq 0,05$) quanto à espessura e deformação relativa na carga máxima. No entanto, o filme incorporado de 10 % de aldeído cinâmico apresentou carga máxima de

deformação significativamente menor ($p < 0,05$) que os outros tratamentos, provavelmente pela maior concentração de aldeído e a pela sua hidrofobicidade. Em função desses fatores, o filme apresentou também menor permeabilidade ao vapor d'água.

As temperaturas de armazenamento influenciaram significativamente ($p < 0,05$) as propriedades mecânicas do filme, uma vez que na temperatura ambiente a carga máxima média e a deformação média foram menores que as obtidas sob refrigeração.

Por meio dos resultados verificou-se que o uso de filmes incorporados com aldeído cinâmico é uma alternativa para o controle do crescimento de microrganismos deterioradores e patogênicos em massas de pastel e pães artesanais de canela.

Para verificação da eficiência antimicrobiana dos sachês é necessária a avaliação da relação volume da embalagem massa do polímero na confecção do sachê.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHVENAINEN, R. Introduction. In: (Ed.) **Novel Food Packaging Techniques**. Washington: CRC Press, 2003.

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

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos**: teoria e prática. Viçosa: Impr. Univ./UFV, 1995. 335 p.

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

CHENG, S. S.; LIU, J. Y.; HSUI, Y. R.; CHANG, S. T. Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). **Bioresource Technology**, v. 97, p. 306-312, 2006.

CONTE A.; BUONOCORE, G. G.; SINIGAGLIA, M.; DEL NOBILE, M. A. Development of immobilized lysozyme based active film. **Journal of Food Engineering**, v. 78, p. 741-745, 2007.

DELAQUIS, P. J.; STANICH, K.; GIRARD, B.; MAZZA, G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, p. 101-109, 2002.

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

FRIEDMAN, M.; KOZUEKUE, N.; HARDEN, L. A. Cinnamaldehyde content in foods determined by gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 5702-5709, 2000.

GERALDINE, R. M. **Parâmetros tecnológicos para o processamento mínimo de alho (*Allium sativum* L.)**. 2000. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

GILL, A. O.; HOLLEY, R. A. Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. **International Journal of Food Microbiology**, v. 111, p. 170-174, 2006.

GILL, A. O.; HOLLEY, R. A. Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 5750-5755, 2004.

HAN, J. H. Antimicrobial Food Packaging. In: AHVENAINEN, R. (Ed.) **Novel food packaging techniques**. Washington: CRC Press, 2003.

HOLLEY, R. A.; PATEL, D. Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. **Food Microbiology**, v. 22, p. 273-292, 2005.

HOOTH, M. J.; SILLS, R. C.; BURKA, L. T.; HASEMAN, J. K.; WITT, K. L.; ORZECH, D. P.; FUCIARELLI, A. F.; GRAVES, S. W.; JOHNSON, J. D.; BUCHER, J. R. Toxicology and carcinogenesis studies of microencapsulated trans-cinnamaldehyde in rats and mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 1757-1768, 2004.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 4. ed. New York: Chapman & Hall. 1995. 701 p.

JHAM, G. N.; DHINGRA, O. D.; JARDIM, C. M.; VALENTE, V. M. M. Identification of the major fungitoxic component of cinnamon bark Oil. **Fitopatologia Brasileira**, n. 4, v. 30, p. 404-408, 2005.

KIM, H. O.; PARK, S. W.; PARK, H. D. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. **Food Microbiology**, v. 21, p. 105-110, 2004.

KIRK-OTHMER. **Encyclopedia of chemical technology**. 4. ed. Grayson, M. (Ed.). New York: John Wiley & Sons, 2001.

KWON, J. A.; YU, C. B.; PARK, H. D. Bactericidal effects and inhibition of cell separation of cinnamic aldehyde on *Bacillus cereus*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 37, p. 61-65, 2003.

LIMJAROEN, P.; RYSER, E.; LOCKHART, H.; HARTE, B. Development of a Food Packaging Coating Material with Antimicrobial Properties. **Journal of Plastic Film & Sheeting**, v. 19, p. 95-109, 2003.

MALO, A. L.; ALZAMORA, S. M.; PALOU, E. *Aspergillus flavus* growth in the presence of chemical preservatives and naturally occurring antimicrobial compounds. **International Journal of Microbiology**, v. 99, p. 119-128, 2005.

MANZUR, F.; SAYED, F.; BAZEX, J. Contact allergy to cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol in oleophytal. **Contact Dermatitis**, v. 32, p. 55, 1995.

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

MELO, N. R. **Avaliação de embalagem ativa por incorporação de nisina na inibição de *Staphylococcus* sp.** 2003. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003

MELO, N. R.; WURLITZER, N. J.; BASTOS, M. S. R.; SOARES, N. F.; MACEDO, V. F. **Avaliação da atividade antimicrobiana de filmes incorporados com lactato de sódio em salsichas embaladas a vácuo.** In: Anais do XXI CBCTA, 2002.

MOLEYAR, V.; NARASIMHAM, P. Antibacterial activity of essential oil components. **International Journal of Food Microbiology**, v. 16, p. 337-342, 1992.

NADVORNY, A.; FIGUEIREDO, D. M. S.; SCHMIDT, V. Ocorrência de *Salmonella* sp. em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul em 2000. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, p. 47- 51, 2004.

NAIDU, A. S. Overview. In: NAIDU, A. S. (Ed.) **Natural food antimicrobial systems**. London: CRC, 2000.

NIKAIDO, H. Outer Membrane Barrier as a Mechanism of Antimicrobial Resistance – Minireview. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 33, p. 1831-1836, 1989.

OLIVEIRA, L. M.; ALVES, R. M. V.; SARANTÓPOULOS, C. I. G. L.; PADULA, M.; GARCIA, L. **Ensaio para avaliação de embalagens plásticas flexíveis**. Centro de Tecnologia de Embalagem (CETEA). Campinas, 1996. p.173-182.

OUATTARA, B.; SIMARD, R. E.; PIETTE, G.; BÉGIN, A.; HOLLEY, R. A. Inhibition of surface spoilage bacteria in processed meats by application of antimicrobial films prepared with chitosan. **International Journal of Food Microbiology**, v. 62, p. 139-148, 2000.

PINTO, U. M.; CARDOSO, R. R.; VANETTI, M. C. D. Detecção de *Listeria*, *Salmonella* e *Klebsiella* em serviço de alimentação hospitalar. **Revista de Nutrição**, v. 17, p. 319-326, 2004.

PADHYE, N. V.; DOYLE, M. P. *Escherichia coli* O157:H7: epidemiology, pathogenesis and methods for detection in food. **Journal of Food Protection**, v. 55, n. 7, p. 555-565, 1992.

PIRES, A. C. S. **Desenvolvimento e Avaliação de filmes e sachê antimicrobianos na conservação de queijo mussarela fatiado**. 2006. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.

POSTER, M. T.; HOWARD, K. S.; JOHNSON, A. H.; Mc MICHAEL, K. L. **Scanning electron microscopy: a student's handbook**. cap. 6, p. 182-240, 1980.

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

RAPINI, L. S.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; CARMO, L. S.; VERAS, J. F.; SOUZA, M. R. Presença de *Staphylococcus* spp. produtores de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico em manipuladores de queijo de cabra. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 57, p. 825-829, 2005.

ROBERTSON, G. L. **Food packaging, principles and practice**. New York, Marcel Dekker, Inc., 1993.

ROONEY, M. L. Active packaging in polymer films. In: ROONEY, M. L. (Ed.) **Active food packaging**. London: Blakie Academic and Professional, 1995. p. 74-110.

SAS INSTITUTE SAS/STAT USER GUIDE: usage and reference. Version 8.0. Cary, 1996. 501 p.

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

SIMAS, N. K.; LIMA, E. C.; CONCEIÇÃO, S. R.; KUSTER, R. M.; FILHO, A. M. O. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue – atividade larvicida de *Myroxylon balsamum* (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 46-49, 2004.

SIVAKUMAR, D.; WIJERATNAM, R. S. W.; WIJESUNDERA, R. L. C.; ABEYESEKERE, M. Control of postharvest diseases of rambutan using cinnamaldehyde. **Crop Protection**, v. 21, p. 847-852, 2002.

SOARES, N. F. F. **Bitterness reduction in citrus juice through naringinase immobilized into polymer film**. 1998. 130 f. Ph.D. Thesis, New York: Cornell University, 1998.

TOLEDO, M. M. **Crescimento de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCK 400 e produção de nisina em meio à base de extratos vegetais**. 2000. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

VALERO, M.; GINER, M. J. Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. **International Journal of Food Microbiology**, v. 106, p. 90-94, 2006.

VERMEIREN, L.; DEVLIEGHERE, F.; VAN BEEST, M.; KRUIJF, N.; DEBEVERE, J. Developments in the Active Packaging of Foods. **Food Science and Technology**, v. 10, p. 77-86, 1999.

WEISSINGER, W. R.; MCWATTERS, K. H.; BEUCHAT, L. R. Evaluation of volatile chemical treatments for lethality to *Salmonella* on alfalfa seeds and sprouts. **Journal of Food Protection**, n. 4, v. 64, p. 442-450, 2001.

WENDA KOON, C. N.; SAKAGUCHI, M. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. **Journal of Food Protection**, v. 58, p. 280-283, 1995.

YAMAZAKI, K.; YAMAMOTO, T.; KAWAI, Y.; INOUE, N. Enhancement of antilisterial activity of essential oil constituents by nisin and diglycerol fatty acid ester. **Food Microbiology**, v. 21, p. 283-289, 2004.

APLICAÇÃO DE FILMES ANTIMICROBIANOS INCORPORADOS COM ALDEÍDO CINÂMICO NA CONSERVAÇÃO DE PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO

RESUMO

Filmes antimicrobianos incorporados com 5 e 10 % de aldeído cinâmico foram intercalados em discos de massa de pastel e também utilizados para envolver pães, ambos os produtos sem adição de conservante na massa. A atividade antimicrobiana dos filmes foi então avaliada, assim como a migração do aldeído cinâmico para os produtos e a aceitação dos produtos pelo consumidor. Como controle foi utilizado filme sem adição do antimicrobiano. Os produtos, após intercalados ou envolvidos nos filmes, foram acondicionados em sacos de polietileno de baixa densidade (PEBD), aqueles contendo massa de pastel foram armazenados a 8 ± 1 °C e aqueles contendo os pães, a 20 ± 2 °C. Para as amostras de massa de pastel, as análises foram realizadas após 0, 5, 10, 30 e 60 dias de armazenamento e para as amostras de pães, após 0, 3, 6, 9 e 12 dias. Nas amostras de pães, a contagem de coliformes totais foi $<1,0 \times 10^1$ UFC.g⁻¹, e nas amostras de massa de pastel as contagens de *B. cereus* e de *Staphylococcus* coagulase positiva foi $<1,0 \times 10^2$ UFC.g⁻¹, e a de coliformes totais foi $<1,0 \times 10^1$ UFC.g⁻¹, durante todos os tempos avaliados. Nas amostras de pães, os filmes foram eficientes para inibição do crescimento de mesófilos aeróbios e fungos filamentosos e leveduras, uma vez que na amostra-controle foi observado o aumento de quatro ciclos log no crescimento, após 12 dias de estocagem. Nas amostras de pastel houve redução de dois e três ciclos log para mesófilos aeróbios e *Staphylococcus* spp., para os filmes 5 e 10 %, respectivamente, ao fim dos 60 dias de análise. A contagem de fungos filamentosos e leveduras não foi alterada durante a estocagem, para as amostras intercaladas com os filmes antimicrobianos. Em todas as avaliações, pH e aw não influenciaram os resultados da avaliação microbiológica. A migração do aldeído cinâmico para o produto influenciou a aceitação das massas de pastel em relação à massa-controle, mas não influenciou a aceitação dos pães, possivelmente pela menor quantidade de aldeído cinâmico detectada nas amostras de pães em

relação às amostras de massa de pastel. Ambos os produtos foram bem aceitos e as médias obtidas ficaram entre gostei ligeiramente (6,0) e gostei moderadamente (7,0).

1. INTRODUÇÃO

A qualidade microbiológica é um dos fatores determinantes na conservação dos alimentos. A contaminação por bactérias e fungos filamentosos e leveduras está relacionada com as maiores perdas dos produtos alimentícios.

Para controlar a atuação desses microrganismos e prolongar a vida de prateleira dos alimentos industrializados, aditivos sintéticos são amplamente utilizados. Embora o uso desses aditivos proporcione resultados satisfatórios no aspecto da conservação, está cada vez mais difundida entre os consumidores a preferência por produtos mais próximos ao natural.

Para atender a essa nova tendência, observa-se a busca crescente por antimicrobianos naturais, principalmente aqueles extraídos de plantas. Além da adição diretamente nos alimentos, esses compostos podem ser incorporados em embalagens, sendo denominadas embalagens ativas. Uma das vantagens dessas embalagens é a liberação controlada dos antimicrobianos.

O aldeído cinâmico, um composto extraído da casca de canela, é usado principalmente para conferir sabor e aroma de canela a alimentos e bebidas e conferir uma fragrância de canela a produtos médicos, cosméticos e perfumes. Sua atividade antimicrobiana também tem sido estudada, e os resultados apontam para o seu alto potencial de aplicação. No entanto, a aplicação do aldeído cinâmico na produção de filmes antimicrobianos não tem sido pesquisada.

Os objetivos deste trabalho foram, portanto, desenvolver filmes antimicrobianos incorporados com aldeído cinâmico e avaliar a eficiência antimicrobiana de filmes flexíveis na conservação de massa de pastel e pães artesanais de canela, ambos sem adição de conservante na formulação, bem como avaliar a aceitação desses produtos por parte do consumidor.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Conservação de alimentos

Para manutenção da qualidade dos alimentos durante toda cadeia produtiva, diversos métodos de conservação são desenvolvidos e aplicados na indústria alimentícia. Dentre esses métodos, podem ser mencionados aqueles que incluem o controle ou a modificação da atmosfera, a aplicação do calor, do frio e da irradiação, o uso de aditivos, entre outros. A qualidade microbiológica é o principal foco da maioria desses métodos, uma vez que a deterioração por microrganismos é o fator predominante quando se trata de perda de qualidade e segurança de produtos alimentícios.

Um grande número de substâncias é permitido para o uso em alimentos (Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997 - ANVISA), e parte dele atua diretamente no crescimento de microrganismos. No entanto, o uso de aditivos sintéticos no sentido de controlar esses fatores e aumentar a conservação do produto alimentício tem sido alvo de muitos questionamentos nos últimos anos, devido às possíveis consequências de sua ingestão à saúde. A esses são atribuídos efeitos tóxicos, como o corante tartrazina, que provoca reações alérgicas, ou os nitritos e nitratos, que levam à formação de subprodutos carcinogênicos como as nitrosaminas (ALABURDA e NISHIHARA, 1998). Para superar esse problema, antimicrobianos naturais como nisina, natamicina, ácidos orgânicos (ROLLER, 2003) e o aldeído cinâmico (ROLLER e SEEDHAR, 2002) são uma alternativa para auxiliar na conservação de alimentos e bebidas, já que pesquisas demonstram sua atividade antimicrobiana.

Como alternativa à aplicação direta do conservante ao alimento, pesquisas na área de embalagens ativas estão crescendo muito, especificamente as embalagens antimicrobianas, que têm como princípio de ação a liberação do antimicrobiano para a superfície do alimento (HAN, 2005). Essas embalagens alcançam, da mesma forma, a manutenção da qualidade sensorial e nutritiva e segurança microbiológica do alimento, no entanto com a vantagem de o conservante estar presente em menores quantidades no produto consumido (APPENDINI e HOTCHKISS, 2002).

2.2. Produtos de panificação

Entre os alimentos construtores e energéticos de grande consumo, com rápida e fácil absorção pelo organismo, destacam-se os produtos de panificação, por participarem da dieta de uma faixa considerável da população do País. No Brasil, os produtos de panificação apresentam consumo *per capita* de 33,11 kg por ano (ABIP, 2006), sendo consumidos na forma de lanche, ou mesmo nas refeições principais.

Grande parte do consumo brasileiro é representado pela linha constituída por pães com crosta fina ou nenhuma crosta, e bastante miolo. Entre eles podem ser citados os pães de forma, pão de hambúrguer, de *hot-dog* e bisnagas, sendo a maioria impulsionada pelas cadeias de *fast-food*. Além desses, têm-se ainda pães especiais como *dinner-roll* e bisnaguinhas, bastante populares no café da manhã de hotéis, na merenda escolar e em *buffets* (ESTELLER *et al.*, 2004).

As características internas e externas dos produtos de panificação dependem da qualidade, da quantidade e do tipo dos ingredientes usados na formulação, do tipo de fermentação, do tempo e da temperatura de cozimento e das práticas complementares do processamento (NAZATO, 1991).

Os produtos de panificação frescos são altamente perecíveis e muito sensíveis às práticas de conservação, de estocagem e de distribuição. Suas características declinam rapidamente a partir do momento que são retirados do forno (PEREIRA *et al.*, 2002), com uma vida de prateleira média de dez dias para pães, 30 dias para massas frescas conservadas sob refrigeração e um ano para massas desidratadas.

Além das mudanças químicas, ocorrem também aquelas provenientes de microrganismos deterioradores, e nos produtos de panificação os mais comuns são os fungos filamentosos. Estes fungos são responsáveis pela formação de *off-flavour*, pelas mudanças na coloração e pela produção de micotoxinas e compostos alergênicos. Estes compostos podem ser formados até mesmo antes do crescimento se tornar visível (NIELSEN e RIOS, 2000).

A causa mais freqüente de perdas em pães é o crescimento de fungos filamentosos. Os fungos mais comuns relacionados às perdas em

produtos de panificação pertencem ao gênero *Penicillium*, *Aspergillus*, *Monilia*, *Mucor*, *Endomyces*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Rhizopus* (BELLO *et al.*, 2007).

Quanto aos critérios microbiológicos para pães, está em vigor a Resolução RDC nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), que prevê limites de coliformes a 45°C de $1,0 \times 10^2$ NMP.g⁻¹ e ausência de *Salmonella* sp. em 25 g.

Para conservação de produtos de panificação, vários fatores são observados, como BPF (Boas Práticas de Fabricação), ambiente de processamento, manuseio, características do produto, e vários processos podem ser aplicados para este fim, como o uso de atmosfera modificada e o uso de aditivos. Os principais aditivos permitidos em produtos de panificação incluem os conservantes como propionato de cálcio, sorbato de potássio, sorbato de cálcio e ácido sórbico.

O uso da embalagem com atmosfera modificada é estudado para aumentar a vida de prateleira de pães, mas resultados mostram que em vários casos a proteção adequada não é alcançada, principalmente quando leveduras estão envolvidas (HAASUM e NIELSEN, 1998). Portanto, embalagem ativa com incorporação de agentes antimicrobianos pode ser uma alternativa interessante para manutenção da vida de prateleira de produtos de panificação.

2.3. Massas frescas

As massas frescas, incluindo a do pastel, são muito consumidas no Brasil e em diversos países. Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2000), massa alimentícia é o produto não-fermentado, recheado ou não, obtido pelo empasto e amassamento mecânico de farinha de trigo nas suas diferentes formas, adicionado ou não de outros ingredientes e acompanhado ou não de temperos. Quanto ao teor de umidade, massa alimentícia úmida ou fresca é o produto que pode ou não ser submetido a um processo de secagem parcial, de forma que o produto final apresente umidade máxima de 35% b.u. (base úmida).

A contaminação de massas frescas pode ser proveniente dos ingredientes usados na formulação. Estes incluem farinha de trigo, ovos, água, entre outros. Os equipamentos, o ambiente de processamento e os manipuladores também têm importante papel na contaminação do produto final (MAYOU e MOBERG, 1992). Segundo Marín *et al.* (2003), assim como os produtos de panificação, as massas frescas estão sujeitas à contaminação por fungos filamentosos, principalmente das espécies *Eurotium*, *Aspergillus* e *Penicillium*.

Quanto aos critérios microbiológicos para massa fresca, está em vigor a Resolução RDC nº 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001), que prevê limites para estafilococos coagulase positiva de $5,0 \times 10^3$ UFC.g⁻¹, coliformes a 45 °C de $1,0 \times 10^2$ NMP.g⁻¹, *Bacillus cereus* de $5,0 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ e ausência de *Salmonella* sp. em 25 g. A Portaria nº 451 (BRASIL, 1997), revogada pela resolução anterior, previa também a contagem de fungos filamentosos e leveduras no limite máximo de 10^4 UFC/g. Atualmente, a verificação do crescimento desses microrganismos é feita apenas visualmente.

Em geral, os conservantes químicos, principalmente ácidos orgânicos e seus sais, sorbatos, benzoatos e propionatos, são usados para inibir o crescimento microbiano e aumentar a vida de prateleira de massas alimentícias frescas, juntamente com o uso do frio, visto que esses produtos são embalados sem tratamento térmico. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária regulamentou o uso do ácido sórbico e seus sais na concentração máxima de 0,1% como ácido sórbico (BRASIL, 1999), para utilização em massa fresca.

Conservantes de ácidos fracos não têm implicações tóxicas nas concentrações recomendadas, porém, atualmente, há uma demanda da população no sentido de consumir alimentos com menor concentração de aditivos (OLIVEIRA, 2004) e mais próximos ao natural. Com o uso de antimicrobianos naturais e sua incorporação em filmes ativos, esses anseios são possíveis de ser alcançados.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Embalagens do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

3.1. Preparo dos filmes

Os filmes foram produzidos pelo método *casting* (utilização de solvente), de acordo com a metodologia descrita por Soares (1998). Foram preparados filmes, de base celulósica, incorporados com 5 e 10 % de aldeído cinâmico (Sigma-Aldrich, São Paulo-SP) e um filme-controle, sem incorporação do aldeído (0%).

Os filmes, após completa evaporação do solvente, foram separados por folhas de papel branco e armazenados a 23 ± 2 °C, para análises posteriores. Todos os filmes foram submetidos à luz ultravioleta (Prodicil, 110 V, 254 nm) por 10 minutos em cada lado, imediatamente antes da aplicação nos produtos (pão ou pastel).

3.2. Preparação da massa de pastel

A massa de pastel foi adquirida de uma empresa no mercado local. Foram utilizados como ingredientes farinha de trigo, água, gordura vegetal hidrogenada, sal e glutamato monossódico, não tendo sido adicionado conservante. As massas foram cortadas com 10 cm de diâmetro, separadas por filmes plásticos, e conduzidas ao laboratório de embalagens, sob resfriamento, em caixas de isopor, para posterior uso nos experimentos.

3.3. Preparação dos pães

Os pães de canela foram produzidos artesanalmente e foram utilizados como ingredientes farinha trigo, ovos, açúcar, óleo, fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*), sal, água e canela em pó (0,01 %).

A massa foi deixada em descanso por 40 minutos, sovada por alguns minutos, distribuída em porções de 100 g nas fôrmas, deixadas em descanso para fermentação final por mais 40 minutos e, finalmente, colocadas para assar. Todos os pães produzidos foram assados por 20 minutos, a 200 °C.

3.4. Montagem do experimento com a massa de pastel

Filmes com 0, 5 e 10 % de aldeído cinâmico foram cortados em diâmetros de 10 cm, e para cada tratamento foi montado um sanduíche, intercalando-se a massa de pastel e filme (Figura 1). O sanduíche foi acondicionado em saco de polietileno de baixa densidade (PEBD) e armazenado a 8 ± 2 °C. O experimento foi realizado em três repetições.

Foram retiradas amostras nos tempos 0, 5, 10, 30 e 60 dias, para as análises.

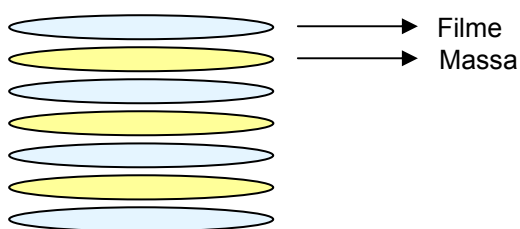


Figura 1 – Esquema de montagem do sanduíche de filme e massa de pastel.

3.5. Montagem do experimento com o pão

Os pães inteiros foram envolvidos com o filme contendo 0, 5 ou 10 % de aldeído cinâmico, acondicionados, separadamente, em sacos de PEBD e armazenados a 23 ± 2 °C (Figura 2). O experimento foi montado em três repetições.

As amostras foram retiradas nos tempos 0, 3, 6, 9 e 12 dias, para as análises.

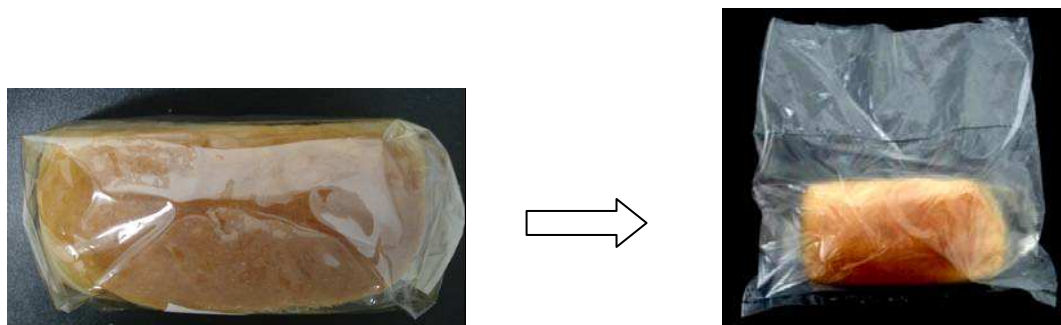


Figura 2 – Figura ilustrativa da montagem do experimento com os pães caseiros. Primeiramente o pão foi envolvido com o filme produzido (esquerda) e, em seguida, acondicionado em saco de PEBD (direita)

3.6. Análises microbiológicas

Vinte e cinco gramas das amostras de pão ou massa de pastel foram homogeneizadas com 225 mL de água peptonada 0,1%, por 1 minuto, em Stomacher (ITR modelo 1240). Foram realizadas diluições decimais e posterior plaqueamento em *Agar PCA*, para contagem total de mesófilos aeróbios, e em *Agar BDA*, para fungos filamentosos e leveduras. Foram realizados também, para as amostras de pastel, as análises de *Staphylococcus spp.* em *Agar Baird Parker*, complementadas com a prova de coagulase, coliforme total em *Agar VRB* e *Bacillus cereus* em ágar Seletivo para *Cereus Manitol-Yolg egg-Polimixina Agar* e para as amostras de pães, coliforme total em *Agar VRB*, em atendimento a RDC nº 12, de 2001 da Agência Nacional de Vigilância sanitária (BRASIL, 2001). As placas foram incubadas a 37°C, por 48 horas, com exceção das placas com BDA, que foram incubadas a 25 °C, por 48 a 72 horas. Foram selecionadas placas com 25 a 250 colônias (DOWNES e ITO, 2001).

3.7. Análises físico-químicas

3.7.1. Quantificação do aldeído cinâmico

A determinação da concentração de aldeído cinâmico presente no *headspace* da embalagem foi realizada com o auxílio de um cromatógrafo a

gás – espectômetro de massa GC-MS (SHIMADZU, QP5050), equipado com uma coluna capilar DB5 (30 m x 0,25 mm, espessura de 0,25 μm), pela metodologia de Cheng *et al.* (2006).

Foram pesados 6 g da amostra de pão ou massa de pastel e colocados em recipientes de vidro (20 mL). As amostras foram mantidas por 30 minutos dentro do recipiente vedado e, em seguida, foi coletado 1 mL da amostra a partir do *headspace* do recipiente para injeção no GC-MS. A temperatura de injeção utilizada foi de 250°C, a temperatura do forno de 80 °C, por 1 minuto, e então programada para o aumento de 80 a 160 °C, a uma taxa de 4 °C/minuto, e mantida por 5 minutos. Foram utilizados taxa *split* 1:10, gás hélio como gás de arraste, fluxo de 1 mL.min⁻¹ e temperatura da interface de 200 °C.

3.7.2. Análise do pH

A amostra de pão ou da massa de pastel foi preparada na proporção produto: água de 1:10 m/m, segundo as normas analíticas do INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005), e o pH foi medido em potenciômetro (Digimed modelo 20).

3.7.3. Análise da atividade de água (*aw*)

A determinação da atividade de água foi realizada com o auxílio do determinador de atividade de água Texto (Modelo 650), a 23 ± 2 °C.

3.7.4. Avaliação da textura dos pães – teste de compressão

Foi obtida uma curva relacionando carga de compressão (N) *versus* extensão da compressão (mm), por meio do determinador universal de teste (INSTRON série 3367), com carga de 50 N e velocidade de 30 mm.min⁻¹, com uma *probe* cilíndrica de 13 mm direcionada para o centro da amostra (FESSAS e SCHIRALDI, 1998). Os pães foram cortados em pedaços de 2,5 cm de espessura e as fatias centrais utilizadas. Nesse teste, a textura é dada em função da máxima carga de compressão obtida.

3.8. Delineamento estatístico

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em um esquema fatorial (3 x 5), três concentrações e cinco datas de avaliação, com três repetições, tendo os resultados sido submetidos à análise de variância e, posteriormente, ao teste de Tukey, por meio do programa SAS, versão 8.0. (SAS, 1996), ou à análise de regressão pelo *Microsoft Office Excel 2003*.

3.9. Análise sensorial

As amostras de pães foram submetidas à análise sensorial no Laboratório de Análise Sensorial do DTA – UFV – e avaliadas por 50 provadores. Para as amostras de massa de pastel o teste foi realizado em supermercado, e as amostras foram avaliadas por 100 provadores; neste caso, a massa-controle foi adquirida em supermercado local, adicionada de sorbato de potássio, mantendo, contudo, o fabricante.

Para os dois produtos o teste utilizado foi o de aceitação com uso da escala hedônica de acordo com Minim (2006). As amostras de pastel foram avaliadas após cinco, 30 e 60 dias de armazenamento e as amostras de pão, após três e 12 dias.

Esse experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 3 x 3, três concentrações e três datas de avaliação, para as amostras de massa de pastel, e 3x2, três concentrações e duas datas de avaliação, para os pães. O experimento foi realizado com três repetições, tendo os resultados sido submetidos à análise de variância e, posteriormente, ao teste de Tukey, de acordo com Minim (2006).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras de pão ou de massa de pastel estavam dentro dos limites de contagem estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2001). A contagem inicial de coliformes totais das amostras de pães foi

$<1,0 \times 10^1 \text{ UFC.g}^{-1}$; nas amostras de massa de pastel as contagens de *B. cereus* e de Staphylococcus coagulase positiva foram inferiores a $1,0 \times 10^2 \text{ UFC.g}^{-1}$ e a de coliformes totais, inferiores a $1,0 \times 10^1 \text{ UFC.g}^{-1}$.

4.1. Experimento com pães

As contagens de mesófilos aeróbios e de fungos filamentosos e leveduras para as amostras de pães envolvidos com os filmes 5 e 10% não se alteraram até o final do período de análise (12 dias), tendo essas sido inferiores a $1,0 \times 10^2 \text{ UFC.g}^{-1}$ para ambas as amostras (Figura 3). As amostras com 0 % de aldeído cinâmico apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) do número de mesófilos e de fungos filamentosos e leveduras com o tempo, observando-se, até o final, o aumento de quatro ciclos log para ambos os grupos microbianos. Assim, pôde-se constatar a eficiência do filme antimicrobiano na inibição do crescimento desses microrganismos e que não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) na eficiência entre as duas concentrações utilizadas.

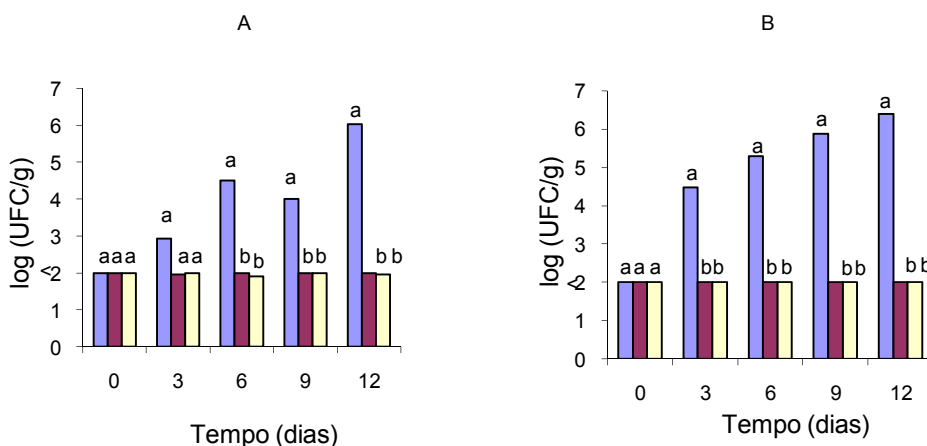


Figura 3 – Contagem de mesófilos aeróbios (A) e fungos filamentosos e leveduras (B) nas amostras de pães envolvidos com filme contendo 0% ■, 5% ■ e 10% ■ de aldeído cinâmico durante o armazenamento. Médias de tratamentos dentro de cada tempo, seguidas de mesma letra, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Não foi observada diferença significativa ($p \geq 0,05$) nos valores de pH entre os pães envolvidos com os diferentes filmes ativos, e a queda dos valores ao longo do tempo (Figura 4) também não foi significativa ($p \geq 0,05$).

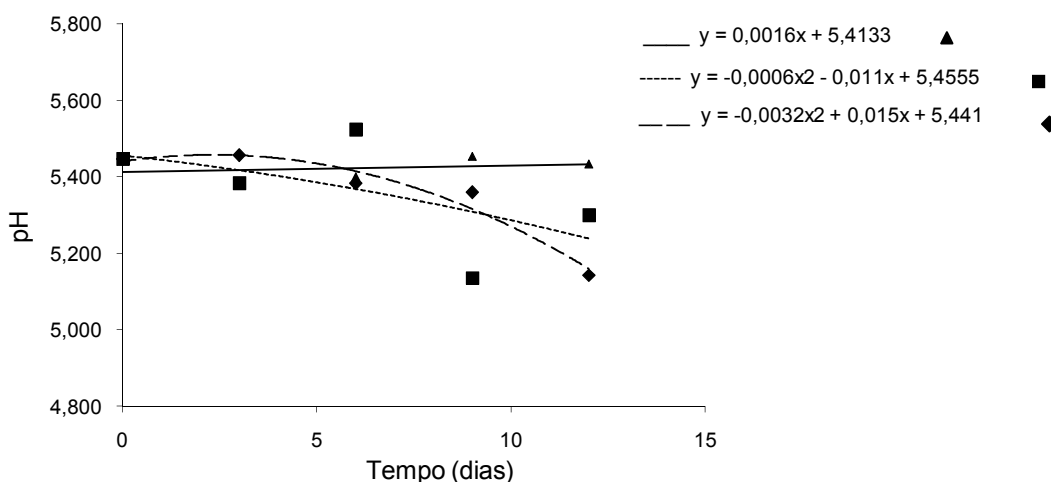


Figura 4 – Variação do pH das amostras de pães envolvidos com filmes contendo 0% ◆, 5% ■ e 10% ▲ de aldeído cinâmico durante o armazenamento.

No entanto, para a atividade de água (a_w), foi observada queda significativa ($p < 0,05$) com o tempo (Figura 5). Os pães apresentaram a_w média de 0,87 no tempo 0 e após 12 dias de estocagem os valores reduziram-se para 0,82, 0,85 e 0,84, respectivamente, para os filmes 0, 5 e 10%. Apesar de a queda ter sido significativa ($p < 0,05$), esse fator não influenciou os resultados das análises microbiológicas, pois o filme-controle também apresentou queda e, no entanto, o crescimento de microrganismos aumentou significativamente com o tempo ($p < 0,05$).

A textura do miolo dos pães medida pela carga de compressão apresentou variação significativa ($p \geq 0,05$) ao longo do armazenamento (Figura 6). Até o sexto dia de armazenamento não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) quanto à força de compressão para os pães acondicionados nos diferentes filmes. Após nove dias de estocagem, os pães envoltos no filme-controle apresentou força de compressão maior que a das amostras envoltas nos filmes com 5 e 10% de aldeído cinâmico (Figura 7).

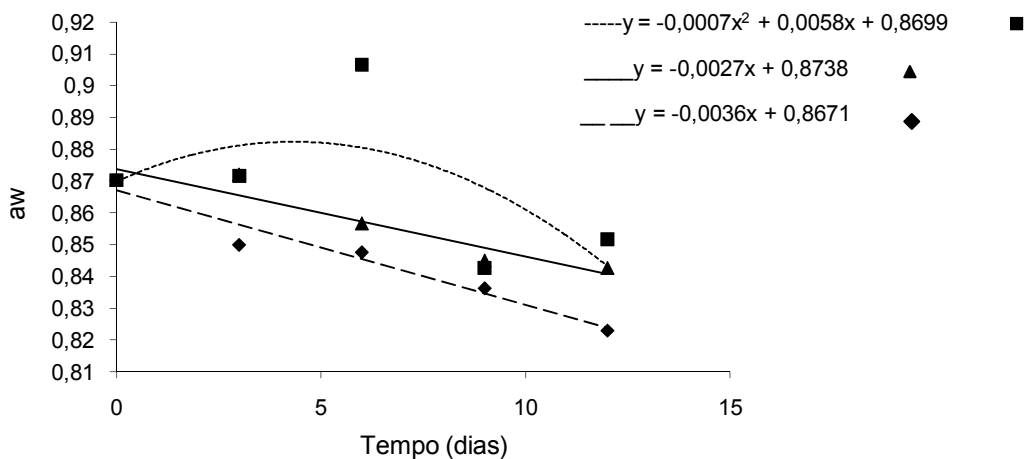


Figura 5 – Variação da atividade de água (a_w) das amostras de pães envolvidos com filmes contendo 0%, 5% e 10% de aldeído cinâmico durante o armazenamento.

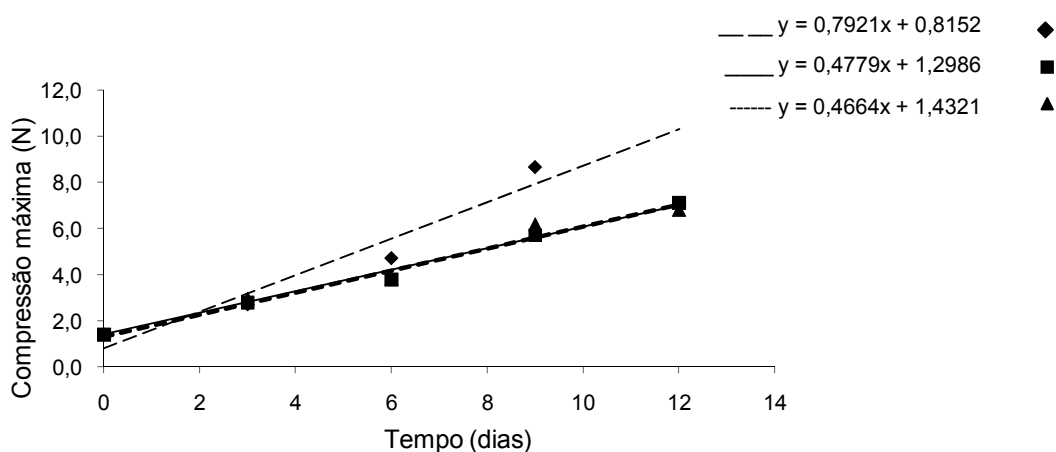


Figura 6 – Variação da compressão máxima (N) das amostras de pães envolvidos com filmes contendo 0%, 5% e 10% de aldeído cinâmico, após 0, 3, 6, 9 e 12 dias de armazenamento.

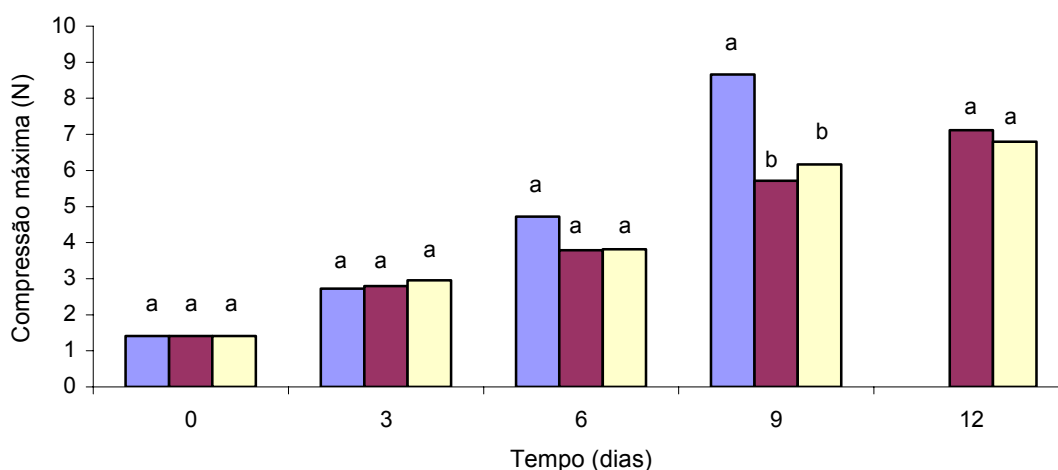


Figura 7 – Compressão máxima (N) das amostras de pães envolvidos com filmes contendo 0% ■, 5% ■ e 10% ■ de aldeído cinâmico, após 0, 3, 6, 9 e 12 dias de armazenamento. Médias de tratamentos dentro de cada tempo, seguidas de mesma letra, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

O processo de envelhecimento do pão ou *bread staling* tem sido explicado por diversos fatores, como a retrogradação do amido e a interação entre proteína e amido (ESTELLER *et al.*, 2004) A retrogradação do amido ocorre durante o resfriamento do pão, o que contribui para a estabilidade da estrutura final do produto. A interação entre proteína e amido é atribuída à formação de ligações cruzadas entre o glúten e o amido gelatinizado e resulta em aumento da firmeza de miolo (VULICEVIC *et al.*, 2003).

No 12^o dia a amostra envolvida com o filme sem conservante (0%) não foi avaliada, em função do crescimento visível de fungos, o que tornou a amostra imprópria para consumo (Figura 8.A). Esse crescimento não foi constatado nas amostras protegidas com os filmes antimicrobianos.

A taxa de permeabilidade do filme-controle, $10,48 \text{ g.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$, e a dos filmes incorporados com 5 e 10 % aldeído cinâmico, $8,92 \text{ g.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$ e $8,28 \text{ g.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$, respectivamente, não contribuíram para as diferenças ocorridas na maciez e na inibição do crescimento dos microrganismos avaliados, uma vez que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) dessa taxa entre as amostras-controle e 5% e entre as amostras 5 e 10%.

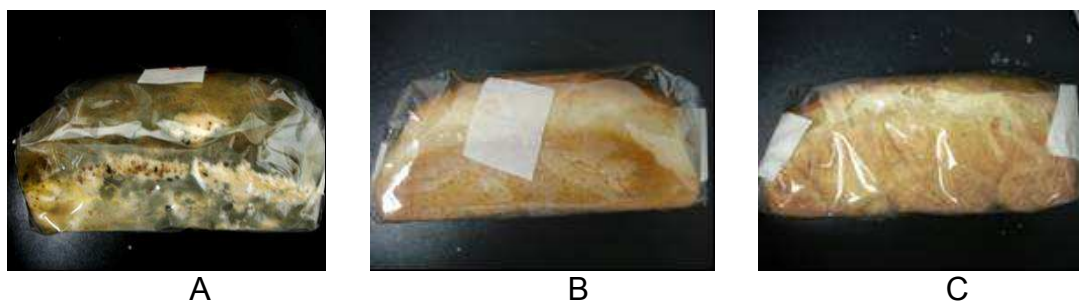


Figura 8 – Pães envolvidos com filme não-incorporado (A) e incorporados com 5% (B) e 10% (C) de aldeído cinâmico, após 12 dias de armazenamento.

A análise sensorial após três dias de estocagem, para os pães dos diferentes tratamentos, resultou em diferença significativa ($p < 0,05$) entre as médias das notas dos provadores para impressão global, e diferença não-significativa ($p \geq 0,05$) entre as amostras para aroma. Para sabor e impressão global, as amostras-controle e as do filme 10% diferiram da amostra com filme 5%, que obteve menor nota pelos provadores (Figura 9).

Após 12 dias de estocagem, as amostras provenientes dos filmes 5 e 10% não diferiram significativamente ($p \geq 0,05$) para os atributos sensoriais aroma, sabor e impressão global. As amostras de pão no filme-controle não foram avaliadas nesse tempo, por apresentarem alta contaminação microbiana.

A quantificação de aldeído cinâmico nas amostras de pães não apresentou relação com a aceitação do produto. Com três dias de armazenamento, foram detectadas as maiores concentrações de aldeído cinâmico nos pães envolvidos com os filmes antimicrobianos, e após 12 dias a concentração de aldeído cinâmico foi muito baixa, menor que 0,002g/g produto (Figura 10). Esses valores baixos podem ter contribuído para a diferença não-significativa ($p \geq 0,05$) nos parâmetros aroma, sabor e impressão global dos pães envolvidos nos filmes com 5 e 10% de aldeído cinâmico.

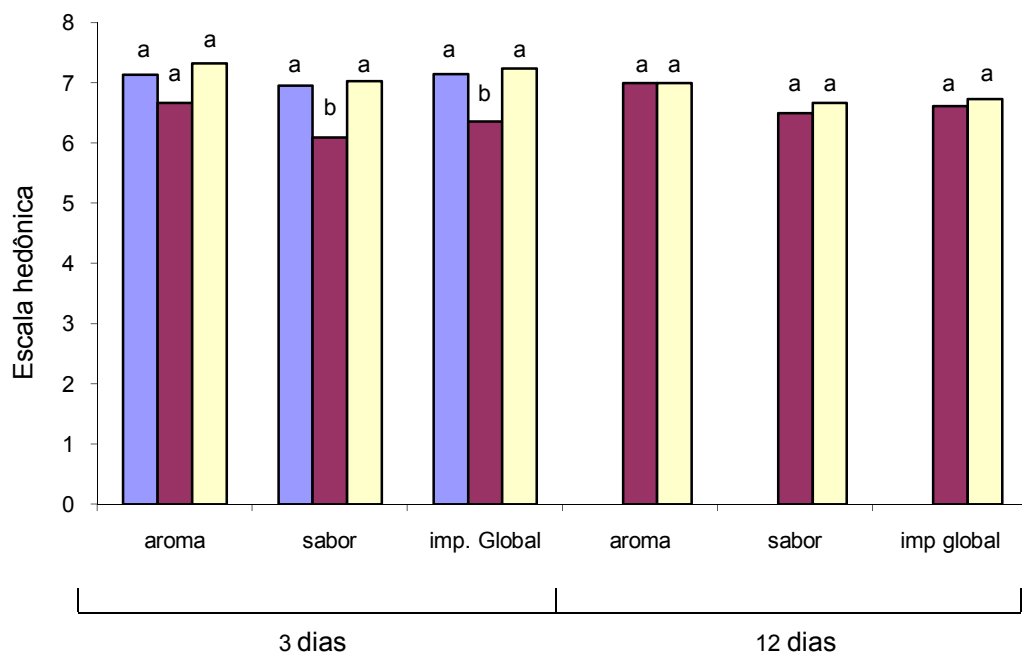


Figura 9 – Análise sensorial das amostras de pães envolvidos com filme contendo 0% ■, 5% ■ e 10% ■ de aldeído cinâmico, após, 3 e 12 dias de armazenamento a $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Médias de tratamentos para mesma barra, seguidas de mesma letra, não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

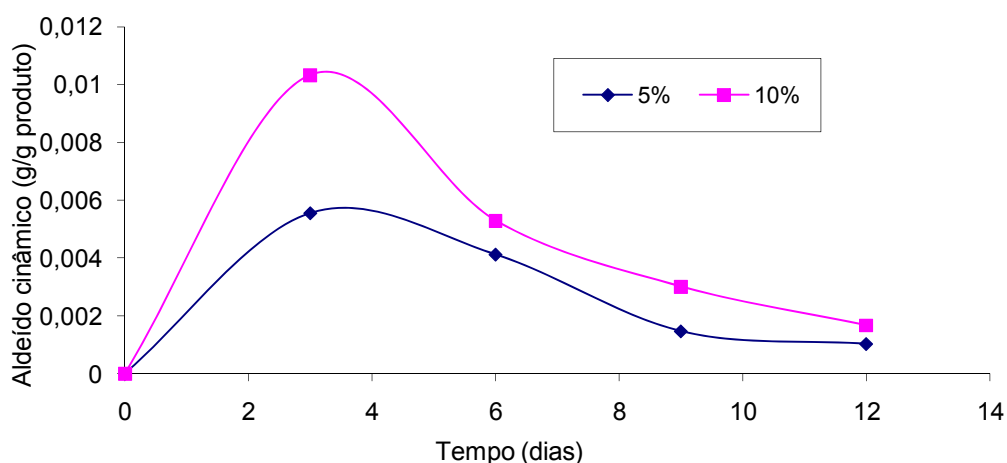


Figura 10 – Concentração de aldeído cinâmico em pães envolvidos com filmes incorporados de 5 e 10% do antimicrobiano, durante o armazenamento a $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

4.2. Experimento com massa de pastel

Nas amostras de massa de pastel, as contagens de mesófilos aeróbios, *Staphylococcus* spp. e fungos filamentosos e leveduras apresentaram aumento significativo ($p < 0,05$) ao longo do tempo de estocagem, nas massas intercaladas com o filme sem o antimicrobiano. No entanto, nas massas intercaladas com os filmes antimicrobianos o número de mesófilos aeróbios e *Staphylococcus* spp., após 60 dias de estocagem, foi reduzido significativamente com o tempo, tendo sido observada redução de dois e três ciclos log para as massas intercaladas com o filme 5 e 10%, respectivamente, para ambos os grupos microbianos, em comparação com as amostras no início do experimento (Figura 11A e B). A contagem de fungos filamentosos e leveduras não apresentou diferença significativa para essas amostras e manteve-se praticamente inalterada ($< 1,0 \times 10^2$ UFC.g⁻¹) ao longo do tempo de estocagem para as amostras intercaladas com os filmes antimicrobianos (Figura 11.C). Para as amostras intercaladas com o filme-controle, no entanto, ocorreu aumento de quatro ciclos log após 30 dias de estocagem.

A partir de cinco dias de estocagem, dentro de cada tempo, as massas intercaladas com os filmes sem o antimicrobiano apresentaram contagem significativamente ($p < 0,05$) maior que as massas intercaladas com os filmes antimicrobianos. No caso de fungos filamentosos e leveduras, essa diferença só foi observada a partir de dez dias de armazenamento (Figura 11).

Com 60 dias de estocagem, as massas intercaladas com o filme sem antimicrobiano não foram analisadas devido ao aparecimento intenso de fungos filamentosos nas massas (Figura 12A), o que não foi observado nas amostras intercaladas com os filmes com 5 % (Figura 12B) e 10 % (Figura 12C) de aldeído cinâmico.

A a_w para as massas intercaladas com os filmes 5 e 10% de aldeído cinâmico apresentou variação significativa ($p < 0,05$), enquanto a a_w para as massas com o filme 0 % não apresentou diferença significativa com o tempo (Figura 13). Entretanto, quando os valores de a_w foram avaliados no mesmo tempo, não foi observada diferença significativa entre os três tratamentos.

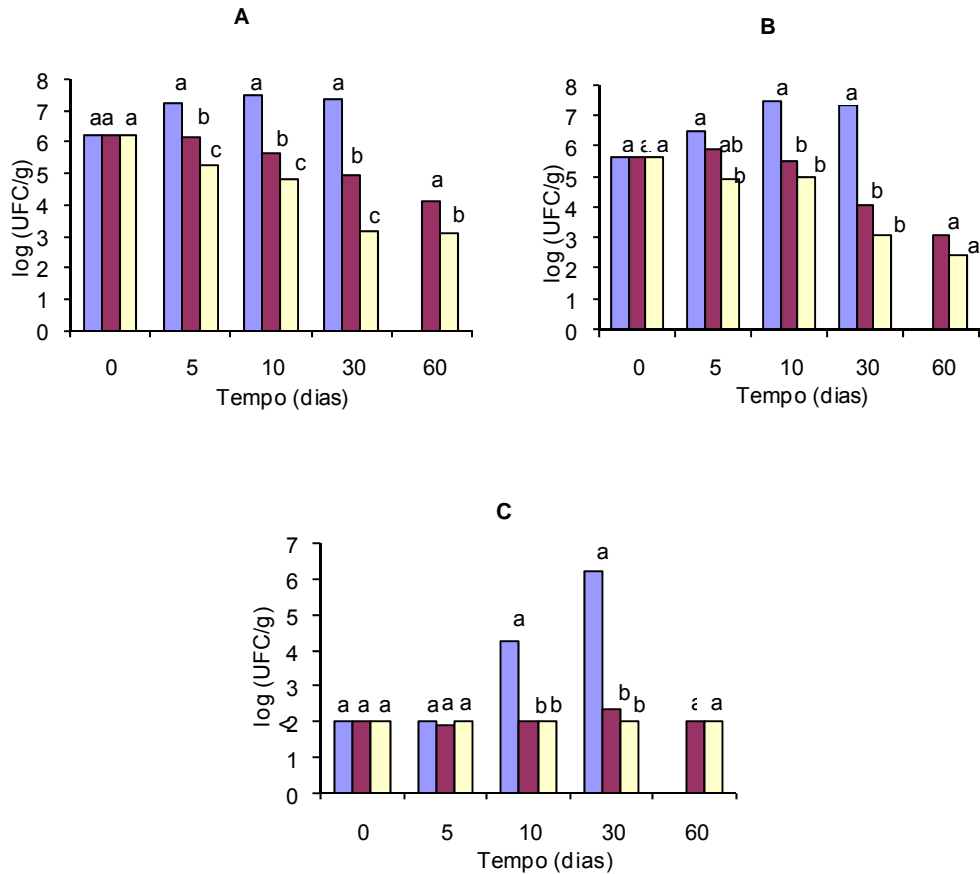


Figura 11 – Contagem de mesófilos aeróbios (A), *Staphylococcus* spp. (B) e fungos filamentosos e leveduras (C) nas amostras de massas de pastel intercaladas com filmes incorporados de 0 % ■, 5 % ■ e 10 % ■ de aldeído cinâmico nos tempos 0, 5, 10, 30 e 60 dias de armazenamento, a $8 \pm 2^\circ\text{C}$. Médias de tratamentos dentro de cada tempo, seguidas de mesma letra, não diferem entre si a 5 % de probabilidade, pelo teste de Tukey.

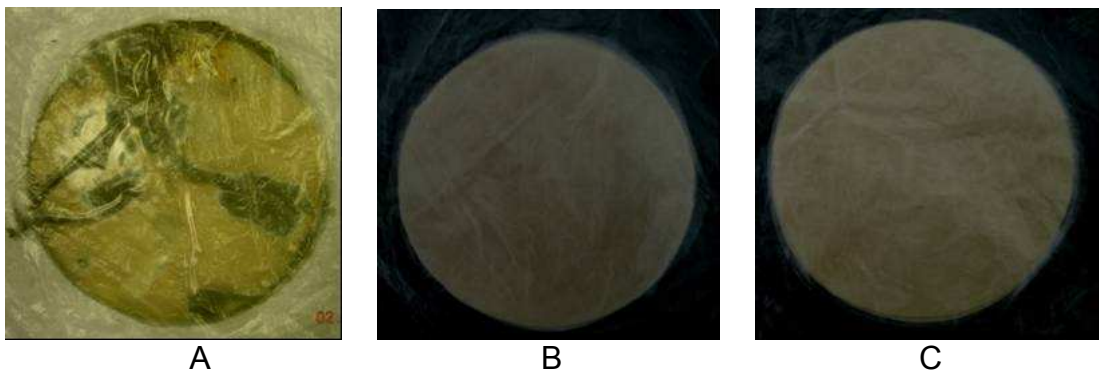


Figura 12 – Massas de pastel intercaladas com filme sem antimicrobiano (A), com 5 % (B) e 10 % (C) de aldeído cinâmico, após 60 dias de armazenamento, $8 \pm 2^\circ\text{C}$.

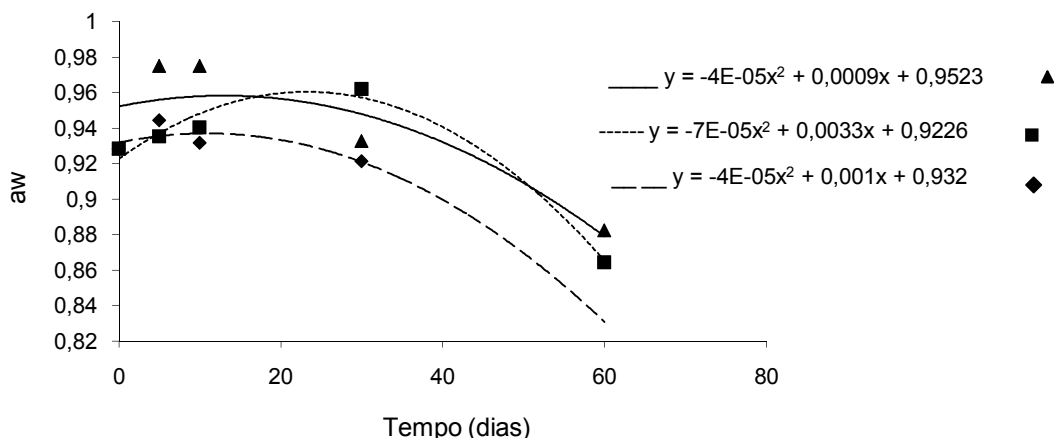


Figura 13 – Variação da atividade de água (a_w) das amostras de massa de pastel intercaladas com filmes incorporados de 0% \blacklozenge , 5% \blacksquare e 10% \blacktriangle de aldeído cinâmico durante o armazenamento.

Segundo Jay (2005), quanto menor a a_w de água do alimento menor o crescimento da maioria dos microrganismos, principalmente de bactérias. A atividade de água mínima para o crescimento de bactérias, com exceção de bactérias halofílicas, é 0,91, para leveduras 0,88 e para fungos filamentosos 0,80. As massas apresentaram valores de atividade de água acima de 0,86, no entanto o crescimento das bactérias avaliadas não foi influenciado por esse fator, uma vez que não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras e que a contagem de microrganismos na amostra-controle aumentou significativamente ($p < 0,05$) com o aumento do tempo de estocagem.

O pH de todas as amostras apresentou redução significativa ($p < 0,05$) com o aumento do tempo de estocagem (Figura 14). A diminuição do pH também é fator importante para a inibição do crescimento de microrganismos. No entanto, o valor do pH atingido na massa após o tempo de estocagem não foi suficiente para inibir o crescimento dos microrganismos avaliados, pois as amostras-controle apresentaram aumento no crescimento dos microrganismos.

Por meio da análise sensorial, em que foi analisada a aceitação da massa de pastel quanto aos atributos aroma, sabor e impressão global, constatou-se que os resultados variaram com o aumento do tempo

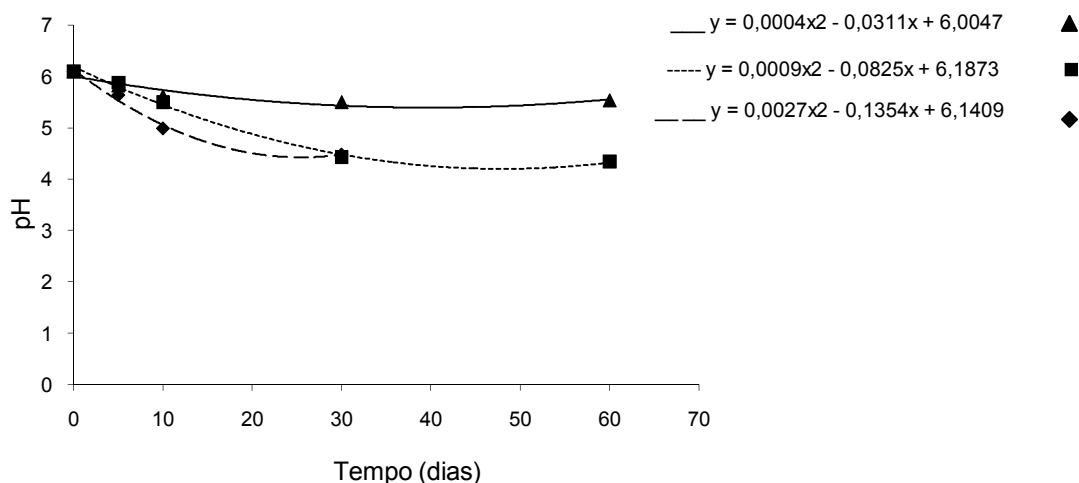


Figura 14 – Variação do pH das amostras de massas de pastel intercaladas com filmes com 0% ◆, 5% ■ e 10% ▲ de aldeído cinâmico, após o armazenamento, $8 \pm 2^\circ\text{C}$.

(Figura 15). Com cinco dias de armazenamento, a amostra-controle foi significativamente ($p < 0,05$) mais aceita que os outros tratamentos em todos os atributos e as notas na escala hedônica variaram entre 7 (“gostei moderadamente”) e 8 (“gostei muito”). As amostras intercaladas com filme 5 e 10 % não diferiram significativamente ($p \geq 0,05$) entre si e apresentaram notas entre 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente).

Com 30 dias de armazenamento não houve diferença significativa ($p < 0,05$) na aceitação dos atributos entre as amostras. Após 60 dias de armazenamento a amostra-controle foi a mais aceita em relação ao sabor, e em relação ao aroma não houve diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre as amostras-controle e aquelas com filme 5%. Nesse mesmo tempo não houve diferenças de aceitação quanto à impressão global.

Portanto, nas massas de pastel, a aplicação do filme antimicrobiano influenciou a aceitação do produto. Pode-se avaliar essa diferença de aceitação, principalmente em relação ao aroma e sabor, pelos resultados de quantificação de aldeído cinâmico absorvidos pela massa por meio da análise no GC-MS (Figura 16). Com cinco dias de armazenamento, detectou-se a maior concentração de aldeído cinâmico, portanto os provadores perceberam maior sabor e aroma de canela nas amostras intercaladas com os filmes antimicrobianos, o que pode ter influenciado a

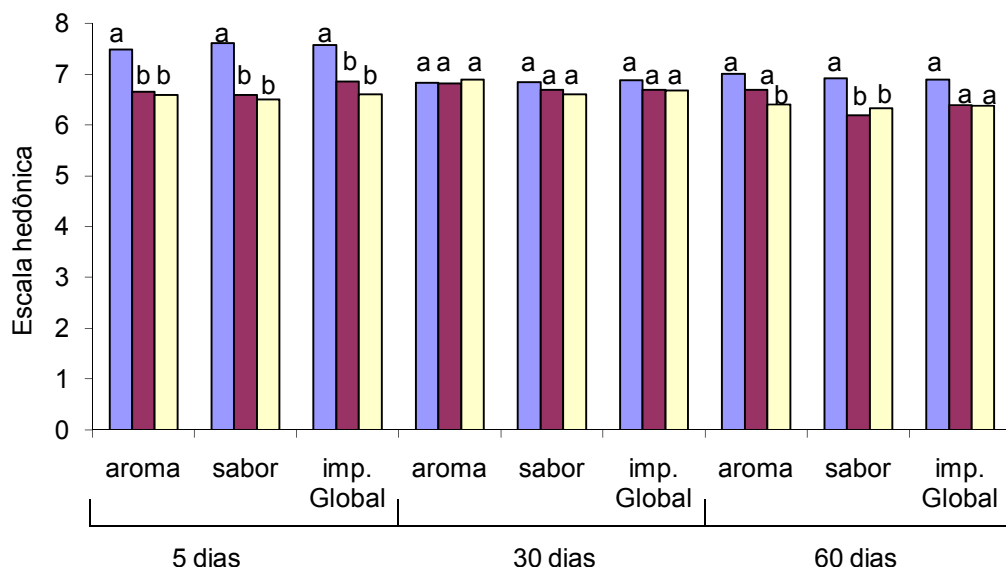


Figura 15 – Análise sensorial das amostras de massa de pastel-controle ■ e intercaladas com filmes contendo 5% ■ e 10% ■ de aldeído cinâmico, após 5, 30 e 60 dias de armazenamento. Médias de tratamentos dentro de cada bloco, seguidas de mesma letra, não diferem entre si a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

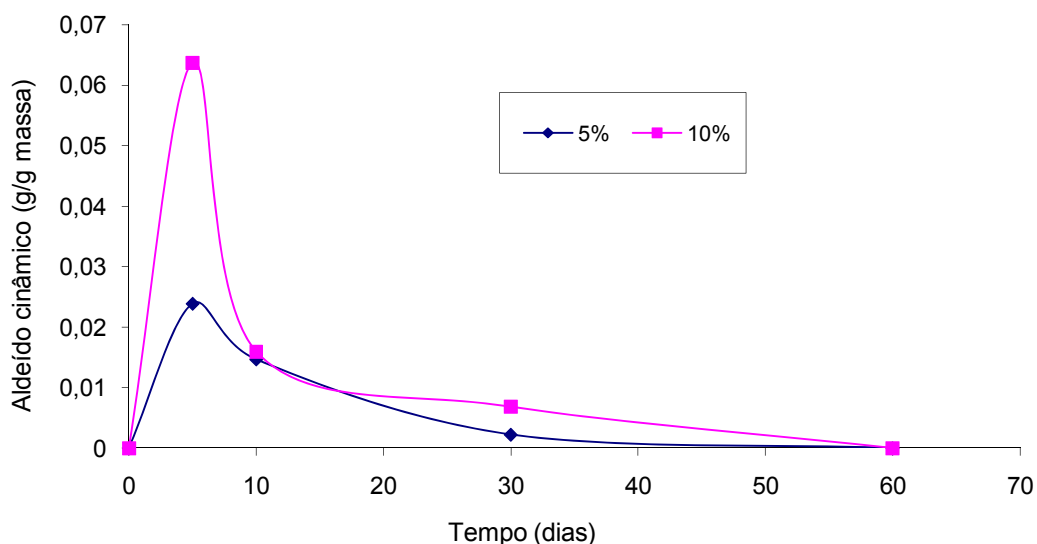


Figura 16 – Concentração de aldeído cinâmico em massa de pastel intercaladas com filme contendo 5 e 10 % do antimicrobiano durante o armazenamento, 8 ± 2 °C.

aceitação do produto quando comparado ao padrão de massa de pastel já habitualmente consumido.

Nas amostras intercaladas com o filme contendo 10% do antimicrobiano após cinco dias de estocagem, a quantidade (g) de aldeído cinâmico foi significativamente ($p < 0,05$) superior à do filme 5 %, no entanto essa diferença não influenciou a aceitação entre essas duas amostras.

Com 30 dias de armazenamento foi observada diminuição significativa ($p < 0,05$) na quantidade de aldeído absorvida pela massa, tendo sido obtidos resultados inferiores a 0,01 g/g de massa e, com isso, o consumidor não percebeu diferença nos atributos sensoriais avaliados.

Após 60 dias de armazenamento foram observados, no cromatograma, vários compostos liberados pela massa, além do aldeído cinâmico, que apresentou diminuição intensa na quantidade absorvida pela massa. Esses compostos formados ao longo da estocagem podem ter influenciado a aceitação do produto em relação ao aroma e ao sabor.

A maior difusão de aldeído cinâmico para a massa de pastel, comparada à do pão, apesar da menor temperatura de estocagem da massa, pode ter ocorrido devido à composição da massa que continha gordura vegetal, dando a massa caráter mais hidrofóbico, e também ao maior contato do filme com a massa.

5. CONCLUSÕES

Os filmes com 5 e 10 % (v/p) de aldeído cinâmico foram efetivos para inibição do crescimento de mesófilos aeróbios e fungos filamentosos e leveduras nas amostras de pães, e não foi constatada diferença significativa ($p \geq 0,05$) de ação antimicrobiana entre as duas concentrações incorporadas no filme. A aplicação dos filmes não influenciou a aceitação do produto pelo consumidor. Para as amostras de pães, o uso do filme com 5 % de aldeído cinâmico já é suficiente para alcançar os resultados esperados.

Nas amostras de massa de pastel, os filmes antimicrobianos foram efetivos na redução do crescimento de mesófilos aeróbios, *Staphylococcus* spp. e fungos filamentosos e leveduras, sendo o filme adicionado de 10 % de aldeído cinâmico mais efetivo que aquele contendo 5%.

No teste de aceitação pelos provadores, a massa de pastel acondicionada no filme-controle obteve maior nota média (7), mas ainda assim os valores para as massas provenientes dos filmes 5 e 10 % foram ambos a nota média 6. Os dois produtos testados tiveram aceitação distribuída entre gostei ligeiramente e gostei moderadamente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIP - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE PANIFICAÇÃO E CONFEITARIA. ABIP EM NÚMEROS, 2006. Disponível em: <<http://www.abip.org.br>>. Acesso em: 29 jan. 2007.

ALABURDA, J.; NISHIHARA, L. Presença de compostos de nitrogênio em águas de poços. **Revista de Saúde Pública**, v. 32, p.160-165, 1998.

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

BELLO, F. D.; CLARKE, C. I.; RYAN, L. A. M.; ULMER, H.; SCHOBER, T. J.; STRÖM, K.; SJÖGREN, J.; SINDEREN, D.; SCHNÜRER, J.; ARENDT, E. K. Improvement of the quality and shelf life of wheat bread by fermentation with the antifungal strain *Lactobacillus plantarum* FST 1.7. **Journal of Cereal Science**, v. 45, p. 309-318, 2007.

BRASIL. Portaria nº 451, de 19 de setembro de 1997. Diário Oficial da União. 1997.

BRASIL. Resolução nº 385, de 5 de agosto de 1999. Diário Oficial da União. 1999.

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

BRASIL. Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Diário Oficial da União. 2001.

CHENG, S. S.; LIU, J.Y.; HSUI, Y.R., CHANG, S.T. Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). **Bioresource Technology**, v. 97, p. 306-312, 2006.

DOWNES, F. P.; ITO, K. (Ed.) Compendium of methods for the microbiological examination of foods. APHA – American Public Health Association, 4th, 2001. 676 p.

ESTELLER, M. S.; YOSHIMOTO, R. M. O.; AMARAL, R. L.; LANNES, S. C. S. Uso de açúcares em produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, n. 4, v. 24, p. 602-607, 2004.

FESSAS, D.; SCHIRALDI, A. Texture and staling of wheat bread crumb: effect of water extractable proteins and 'pentosans'. **Thermochimica Acta**, v. 323, p. 17-26. 1998.

HAASUM, I.; NIELSEN, P. V. Ecophysiological characterization of some food-borne fungi in relation to pH and water activity under atmospheric compositions. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, p. 451-461, 1998.

HAN, J. H. Antimicrobial Food Packaging. In: SILVEIRA, M. F. A. **Filme antimicrobiano incorporado com ácido sórbico na conservação de massa de pastel**. 2005. 64 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Edição IV. Brasília: Instituto Adolfo Lutz, 2005. 104 p.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. 712 p.

MARÍN, S.; ABELLANA, M.; RUBINAT, M.; SANCHIS, V.; RAMOS, A. J. Efficacy of sorbates on the control of the growth of *Eurotium* species on bakery products whit near neutral pH. **International Journal of Food Microbiology**, n. 3, v. 87, p. 251-258, 2003.

MAYOU, J.; MOBERG, L. Cereal and cereal products. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. (Ed.). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3. ed. Washington DC: American Public Health Association, 1992. p. 995-1006.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial** – Estudos com consumidores. Viçosa: Editora UFV, 2006. 225 p.

NAZATO, R. E. S. **Uso de radiação gama do cobalto-60 para aumentar a vida de prateleira de pães de forma fatiados e embalados**. 1991. 643 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.

NIELSEN, P. V.; RIOS, R. Inhibition of fungal growth on bread by volatile components from spices and herbs, and the possible application in active packaging, with special emphasis on mustard essential oil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 60, n. 2-3, p. 219-229, 2000.

OLIVEIRA, L. M. Embalagens ativas e inteligentes para produtos cárneos. **Revista Nacional da Carne**, n. 329, 2004.

PEREIRA, M. C.; SOUZA, S. M. C.; CUNHA, R. L.; ANGÉLICO, C. L. Conservação de produtos de panificação pela adição de condimentos em pó. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, p. 1514-1520, 2002 (edição especial).

ROLLER S. **Natural antimicrobials for the minimal processing of foods**. Cambridge, UK: Woohhead Publishing Ltd., 2003. 306 p.

ROLLER, S.; SEEDHAR, P. Carvacrol and cinnamic acid inhibit microbial growth in fresh-cut melon and kiwifruit at 4 °C and 8 °C. **Letters in Applied Microbiology**, v. 35, p. 390-394, 2002.

SAS INSTITUTE SAS/STAT USER GUIDE: usage and reference, version 8.0. Cary, 1996. 501 p.

SIVAKUMAR, D.; WIJERATNAM, R. S. W.; WIJESUNDERA, R. L. C.; ABEYESEKERE, M. Control of postharvest diseases of rambutan using cinnamaldehyde. **Crop Protection**, v. 21, p. 847-852, 2002.

SOARES, N. F. F. **Bitterness reduction in citrus juice through naringinase immobilized into polymer film**. Ph.D. Thesis, New York: Cornell University, 1998. 130 p.

VALERO, M.; GINER, M. J. Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. **International Journal of Food Microbiology**, v. 106, p. 90-94, 2006.

VULICEVIC, I. R.; ABDEL-AAL, E. S. M.; MITTAL, G. S.; LU, X. Quality and storage life of par-baked frozen breads. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**. v. 37, p. 205-213, 2003.

2. CONCLUSÃO GERAL

Os filmes apresentaram atividade antimicrobiana sobre os fungos *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum* e sobre as bactérias gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*.

Os filmes não diferiram significativamente ($p < 0,05$) quanto à espessura e deformação relativa na carga máxima. No entanto, a carga máxima de deformação e a permeabilidade ao vapor d'água do filme com 10% de aldeído cinâmico foram significativamente menores ($p < 0,05$) que as dos demais tratamentos.

A temperatura de armazenamento influenciou significativamente as propriedades mecânicas do filme.

Os filmes com 5 e 10% de aldeído cinâmico foram efetivos para conservação das amostras de pães e de massa de pastel.

A conservação obtida com o uso do filme com 5% de aldeído cinâmico, para as amostras de pães, foi similar ao produto comercialmente produzido com conservante e para as amostras de pastel. Somente quando foi utilizado o filme adicionado de 10% de aldeído cinâmico foram obtidos resultados semelhantes ao produto comercial.

A aplicação dos filmes não influenciou a aceitação dos pães pelo consumidor, mas influenciou a aceitação das massas de pastel, comparadas à amostra-controle. No entanto, os dois produtos testados tiveram boa

aceitação, cujas notas médias estiveram entre 6 (gostei ligeiramente) e 7 (gostei moderadamente).

A eficiência dos filmes antimicrobianos constatada neste estudo torna-os uma tecnologia alternativa no sentido de ser mais uma barreira microbiológica e promover o aumento na vida de prateleira, sem a adição de conservantes químicos diretamente na massa dos produtos de panificação. Desta forma, o consumidor estará ingerindo produtos com menor concentração de compostos químicos, usualmente utilizados para conservação dos produtos alimentícios.