

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE ALIMENTOS  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM ALIMENTOS  
CAMPUS DE CAMPO MOURÃO

REGIANE MARIA DA SILVA RODRIGUES

**PRODUÇÃO E APLICAÇÃO DE EMBALAGENS ATIVAS  
BIODEGRADÁVEIS NA CONSERVAÇÃO DE PRESUNTO FATIADO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CAMPO MOURÃO  
2015

REGIANE MARIA DA SILVA RODRIGUES

**PRODUÇÃO E APLICAÇÃO DE EMBALAGENS ATIVAS  
BIODEGRADÁVEIS NA CONSERVAÇÃO DE PRESUNTO FATIADO**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de Trabalho de Diplomação, do Curso Superior de Tecnologia em Alimentos do Departamento Acadêmico de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo.

Orientadora: Profa. Dra. Marianne Ayumi Shirai

CAMPO MOURÃO

2015



Ministério da Educação  
UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO  
PARANÁ  
Campus Campo Mourão  
Departamento Acadêmico de Alimentos



## **TERMO DE APROVAÇÃO**

### **PRODUÇÃO E APLICAÇÃO DE EMBALAGENS ATIVAS BIODEGRADÁVEIS NA CONSERVAÇÃO DE PRESUNTO FATIADO**

**por**

**REGIANE MARIA DA SILVA RODRIGUES**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 26 de junho de 2015 como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo de Alimentos. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

---

Profa. Dra. Marianne Ayumi Shirai  
Orientador

---

Profa. Dra. Márcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini  
Membro da banca

---

Profa. Dra. Stéphanie Caroline Beneti  
Membro da banca

---

Nota: O documento original e assinado pela Banca Examinadora encontra-se no Departamento Acadêmico de Alimentos da UTFPR Campus Campo Mourão.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, e por ter me abençoado para concluir esta etapa da minha formação, e que eu possa conquistar todos os meus objetivos tendo Deus em primeiro lugar em minha vida.

Aos meus Pais Reginaldo Pereira da Silva e Maria Terezinha da Silva por me ajudarem a tornar este sonho possível com todo apoio, amor, carinho e atenção.

Aos meus irmãos Josiane, Viviani e Edinaldo pelo amor e carinho.

Aos meus filhos Luiz Gustavo e Mariah pelo amor e pelos abraços carinhosos que me fazem sentir a mãe mais feliz do mundo. E que a cada sorriso me dão forças para seguir em frente.

Às minhas amigas Larissa Cristina Costa e Juliana Martins pela amizade durante todo o período acadêmico, pelo carinho, pelos conselhos, pelas risadas, companheirismo e por toda a ajuda.

À minha orientadora Prof<sup>a</sup>. Dra. Marianne Ayumi Shirai, por toda ajuda na realização deste trabalho, pela paciência e por todo conhecimento concedido sempre com muita calma e carinho.

Ao Silvio José de Souza pela ajuda na produção dos laminados em Londrina.

Às Professoras Dra. Márcia Regina Ferreira Geraldo Perdoncini e Dra. Stéphanie Caroline Beneti pelas sugestões.

Aos amigos de curso pelos momentos de descontração.

E a todos que me ajudaram direta e indiretamente para minha formação e torceram pela concretização desta graduação.

## RESUMO

RODRIGUES, REGIANE M. da S. Produção e aplicação de embalagens ativas biodegradáveis na conservação de presunto fatiado. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal Do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2015.

Para que os alimentos possuam uma vida útil maior, muitos estudos vêm sendo feitos em relação às embalagens ativas biodegradáveis, que além de preservarem as características sensoriais e nutricionais dos alimentos também não prejudicam o meio ambiente. O objetivo deste trabalho foi de produzir laminados biodegradáveis de amido e poli (ácido láctico) (PLA) incorporados com nanopartículas de prata (AgNPs) e avaliar a sua aplicação na conservação do presunto fatiado durante o armazenamento refrigerado. Para avaliar se a AgNP foi efetiva no propósito de atuar como agente antimicrobiano em presunto foram realizadas análises físico-químicas de pH, oxidação lipídica, perda de peso e cor. As análises microbiológicas foram contagem total de microrganismos psicrotróficos, contagem total de mesófilos aeróbios estritos e facultativos e pesquisa de coliformes totais e termotolerantes. As embalagens contendo AgNP reduziram significativamente a contagem de psicrotróficos e mesófilos até o 6º dia de armazenamento. Entretanto, a oxidação lipídica ocorreu em maior proporção nos presuntos envasados em embalagens com AgNP, devido ao efeito catalisador da prata. De uma forma geral, pode-se concluir que os laminados a base de amido e PLA atuaram como um suporte efetivo para incorporação da AgNP e também como uma embalagem alternativa para presunto fatiado.

**Palavras-chave:** Amido. Poli (ácido láctico). Nanopartículas de prata. Extrusão.

## ABSTRACT

RODRIGUES, REGIANE M. da S. Production and application of biodegradable active packaging in cooked sliced ham. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal Do Paraná (UTFPR). Campo Mourão, 2015.

Several studies regarding biodegradable active packaging have been performed with the main objective to preserve the sensory and nutritional properties of food without damaging the environment. The objective of this work was to produce starch and poly (lactic acid) (PLA) biodegradable sheets coated with silver nanoparticles (AgNP) and evaluate their application in the sliced ham conservation during refrigerated storage. Physicochemical analysis of pH, lipid oxidation, weight loss and color, and microbiological analyzes of psychrotrophic, mesophilic, coliforms microorganisms were performed to assess whether the AgNP was effective as antimicrobial agent on sliced ham. Packages containing AgNP significantly reduced psychrotrophic and mesophilic count until the 6th day of storage. However, lipid oxidation occurred in greater proportion in hams packaged in packages containing AgNP due to the catalytic effect of silver. In general, it can be concluded that starch and PLA sheets acted as an effective support for AgNP incorporation and is an alternative for packaging sliced ham.

**Key-words:** Starch. Poly (lactic acid). Silver nanoparticles. Extrusion.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Processo de extrusão formando filamentos cilíndricos e peletes.....	19
Figura 2 – Formação dos laminados .....	20
Figura 3 – Amostra de presunto fatiado com AgNP e amostra controle.....	21
Figura 4 – Formação do complexo colorido.....	24
Figura 5 – Perda de peso em presunto fatiado armazenado em embalagens ativas biodegradáveis por 10 dias .....	28

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de pH e oxidação lipídica em presunto fatiado armazenado em embalagens ativas biodegradáveis por 10 dias .....	26
Tabela 2 – Parâmetros de cor em presunto fatiado armazenado em embalagens ativas biodegradáveis por 10 dias .....	29
Tabela 3 – Avaliações microbiológicas em presunto fatiado durante o armazenamento em embalagens ativas biodegradáveis por 10 dias .....	30
Tabela 4 – Contagem de Coliformes totais e termotolerantes de presunto fatiado durante o armazenamento em embalagens ativas biodegradáveis por 10 dias.....	31



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AgNPs.....	Nanopartículas de Prata.
PLA.....	Poli (ácido láctico).
MAPA.....	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
PPM.....	Parte por Milhão.
PP.....	Polipropileno.
PET.....	Poli (tereftalato de etileno).
PEBD.....	Polietileno de baixa densidade.
PVC.....	Policloreto de Vinila
RPM.....	Rotação por Minuto.
TBARS.....	Quantificação Reativa ao Ácido 2-tiobarbitúrico.
TBA.....	Ácido 2-tiobarbitúrico.
TEP.....	1,1,2,2 tetraetoxipropano.
MDA.....	Malonaldeído.
LST.....	Caldo Lauril Sulfato Triptose.
VBB.....	Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante.
EC.....	Escherichia coli.
NMP.....	Número Mais Provável.
PCA.....	Ágar Padrão para Contagem.
UFC.....	Unidades Formadoras de Colônias.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>12</b>
2.1. OBJETIVO GERAL	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>13</b>
3.1 PRESUNTO	13
3.2 BLENDS DE AMIDO E POLI (ÁCIDO LÁTICO)	14
3.3 NANOPARTÍCULAS DE PRATA	15
3.4 EMBALAGENS ATIVAS PARA PRODUTOS CÁRNEOS	16
<b>4 MATERIAL E METÓDOS</b>	<b>18</b>
4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO	18
4.2 MATERIAL	18
4.3 PRODUÇÕES DOS LAMINADOS DE AMIDO E POLI (ÁCIDO LÁTICO) POR EXTRUSÃO	18
4.4 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AgNPs)	20
4.5 APLICAÇÃO DAS AgNPs NOS LAMINADOS DE AMIDO E PLA E ARMAZENAMENTO DO PRESUNTO FATIADO	21
4.6 AVALIAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO PRESUNTO FATIADO	22
4.6.1 Medida de Cor Objetiva ( $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ )	22
4.6.2 Determinação do pH	22
4.6.3 Determinação da Perda de Peso (PP)	22
4.6.4 Determinação da Oxidação Lipídica	23
4.6.5 Contagem de Coliformes Totais e Termotolerantes	24
4.6.6 Contagem Total de Mesófilos Aeróbios Estritos e Facultativos e Psicrotróficos	25
4.6.7 Análise dos Dados	25
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>26</b>
5.1 AVALIAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS	26
5.1.1 Determinação de pH e Oxidação Lipídica	26
5.1.2 Avaliação de Perda de Peso	27
5.1.3 Avaliação da Cor	28
5.2 AVALIAÇÕES MICROBIOLÓGICAS	29
<b>6 CONCLUSÃO</b>	<b>32</b>
<b>7 REFERÊNCIAS</b>	<b>33</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, grande parte das embalagens utilizadas pelas indústrias alimentícias é oriunda de combustíveis fósseis não degradáveis e isto está sendo considerado um problema ambiental por gerar e depositar enorme quantidade de detritos no meio ambiente (RHIM; PARK; HA, 2013). Neste sentido, muitas pesquisas estão sendo feitas para desenvolver embalagens utilizando-se polímeros biodegradáveis, seja individualmente ou na forma de blendas (WORK et al., 2004; BORDES; POLLET; AVÉROUS, 2009).

Entre as matérias-primas para a produção de embalagens, o amido, tanto na forma nativa como modificada, e o poli (ácido láctico) (PLA) tem ganhado destaque, pois ambos os materiais são biodegradáveis e possuem caráter renovável (RÓZ et al., 2001; YU; DEAN; LI, 2006). O PLA é um poliéster alifático, comercialmente é obtido pela polimerização de monômeros de ácido láctico advindos da fermentação de açúcares presentes no milho, batata, beterraba e cana de açúcar (MARTIN; AVÉROUS, 2001). Alguns estudos relatam a possibilidade de produção de materiais a partir de blendas de amido e PLA a partir do processo de extrusão termoplástica (SHIRAI, 2013; SHIRAI et al., 2015).

Frente aos benefícios ambientais propostos pelo uso de blendas de amido e PLA, a viabilidade econômica e tecnológica destes materiais seria incrementada se estes além de possuírem a função de proteger os alimentos de agentes externos, atuassem como uma embalagem ativa, que se caracteriza por alterar as condições do ambiente ao redor do alimento para prolongar a sua vida útil, mantendo as propriedades sensoriais, nutricionais e de segurança do produto (ROBERTSON, 2006; YAM; TAKHISTOV; MILTZ, 2005). As embalagens produzidas a partir de biopolímeros permitem incorporação de aditivos, tais como: antioxidantes, antifúngicos, antimicrobianos, corantes e outros nutrientes (IMRAN et al., 2010).

Em muitos alimentos sólidos e semissólidos como os produtos cárneos fatiados, a contaminação microbiológica ocorre em maior intensidade na sua superfície, requerendo desta forma um efetivo controle do crescimento microbiano. Tradicionalmente, os agentes antimicrobianos são adicionados diretamente ao alimento e sua eficiência pode ser reduzida em virtude da presença de outros compostos do próprio alimento (OUATTARA et al., 2000).

Com isso, muitos estudos estão sendo direcionados no desenvolvimento de filmes e coberturas antimicrobianas que atuam inibindo a multiplicação microbiana na superfície destes alimentos que estão diretamente em contato com a embalagem. Esta tecnologia também se destaca porque os aditivos são liberados gradualmente, mantendo-se presentes em menores quantidades e apenas onde sua presença é requerida (ANDRADE-MOLINA et al., 2013; APPENDINI; HOTCHKISS, 2002; SUPPAKUL et al., 2003; VERMEIREN; DEVLIEGUERE; DEBEVERE, 2002).

No Brasil, a comercialização de grande parte dos produtos cárneos fatiados, tais como presunto, salame e mortadela ocorrem em bandejas de poliestireno expandido (isopor) recobertas com filmes de PVC (Policloreto de Vinila). Embora a comercialização dos produtos fatiados ocorra sob refrigeração, estes são altamente perecíveis devido a sua composição físico-química. Além disso, este tipo de produto é altamente manipulado e apresenta uma maior superfície de contato com o oxigênio que acelera reações, como de oxidação lipídica, e permite o crescimento de microrganismos aeróbios (BRESSAN et al., 2007; HOLLEY, 1997).

As nanopartículas de prata (AgNPs) têm sido alvo de estudo de vários pesquisadores, devido à facilidade de produção e por apresentar um amplo espectro de atividade antimicrobiana, sendo ativa contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, fungos, protozoários e certos vírus (KUMAR; MUNSTEDT, 2005). A aplicação de nanopartículas de prata (AgNPs) em filmes comestíveis (AN et al., 2008) e em laminados de amido e PLA (PIZZOLI, 2014) foram estudadas e apresentaram grande potencial para serem aplicadas na conservação de alimentos.

Neste sentido, o uso de materiais biodegradáveis associado às AgNPs seria uma alternativa viável na conservação de presunto fatiado, visto que as AgNPs quando aplicadas em salsichas reduziram significativamente a contagem de bactérias lácticas (MANSO, 2014).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

O objetivo do trabalho foi de produzir laminados biodegradáveis de amido e poli (ácido láctico) (PLA), incorporar as nanopartículas de prata (AgNPs) e avaliar a sua viabilidade na conservação de presunto fatiado.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir laminados biodegradáveis de amido e poli (ácido láctico) por extrusão e incorporar nanopartículas de prata;
- Aplicar os laminados na conservação de presunto fatiado;
- Avaliar os parâmetros físico-químicos de cor, perda de peso, pH e oxidação lipídica;
- Avaliar a qualidade microbiológica a partir da contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos, contagem total de psicrotróficos e pesquisa de coliformes totais e termotolerantes.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 PRESUNTO

O presunto é considerado um produto nobre e muito consumido mundialmente devido as suas características sensoriais como sabor e aroma (COSTA et al., 2007). Seu consumo vem aumentando, pois os consumidores procuram cada vez mais por alimentos de qualidade, frescos e fáceis de preparar (BRESSAN et al., 2007). Presunto cozido, segundo a Instrução Normativa nº 20, de 31 de julho de 2000 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), é definido como “o produto cárneo industrializado obtido exclusivamente com o pernil de suínos, desossado, adicionado de ingredientes, e submetido a um processo de cozimento adequado”. (BRASIL, 2000).

Os produtos cárneos estão sujeitos às alterações físicas, químicas e microbiológicas por causa da sua composição em relação à umidade, proteínas, gorduras e outros nutrientes (OLIVO, 2006). O presunto, por exemplo, apresenta teor de sal entre 2 a 4%, pH maior que 6,0 e nitrito residual abaixo de 100 ppm (HOLLEY, 1997).

No fatiamento de presuntos, a contaminação microbiológica pode ocorrer, pois a superfície do cortador representa uma fonte de microrganismos deteriorantes ou patogênicos, ocasionando a formação de biofilme na superfície do cortador. Esse biofilme é como uma “capa” de microrganismos aderidos em uma dada superfície por substâncias poliméricas que lhes conferem esta capacidade de adesão (CHMIELEWSKI, 2003). Sua formação segue as etapas de contato com o microrganismo, a colonização com produção de substâncias poliméricas (polissacarídeos, proteínas, etc.) e maturação. A adesão microbiana ocorre em superfícies mal higienizadas (OLIVEIRA, 2006).

Por ser muito manipulado este produto está em maior contato com o oxigênio, permitindo o crescimento de microrganismo aeróbios afetando também sua vida útil por causa do seu efeito químico, como a oxidação (BRESSAN et al, 2007).

A cor da carne, e de um produto cárneo, depende principalmente do estado da mioglobina (deoximioglobina, oximioglobina e metamioglobina), pois é ela que

dará a cor característica da carne, porém, esta cor pode variar de acordo com a espécie do animal (HONIKEL, 1998; LAWRIE, 2005; BREWER; NOVAKOFSKI; FREISE, 2006; LINDAHL et al., 2006). Para as medições de cor instrumental, são empregados parâmetros de luminosidade ( $L^*$ ), verde a vermelho sendo identificado por  $a^*$ , e  $b^*$  que pode variar das cores azul a amarelo. Porém, apenas os parâmetros  $L^*$  e  $a^*$  são mais utilizadas para conferir a cor da carne e produtos cárneos (MANCINI; HUNT, 2005).

A oxidação da cor pode estar diretamente correlacionada com a oxidação lipídica, causando alteração na cor do produto negativamente. Uma vez que, o átomo de ferro ou a molécula de mioglobina desnaturada podem ser oxidados com os radicais livres gerados na oxidação lipídica (MONAHAN et al., 1993). A oxidação lipídica ocorre devido à degradação do ácido graxo insaturado em produtos secundários como os aldeídos, cetonas, álcoois, ácidos e hidrocarbonetos, degradando componentes importantes como vitaminas lipossolúveis e os ácidos graxos essenciais, e alterando as características sensoriais dos alimentos (HERAS et al., 2003; OLIVO, 2006; GONÇALVES, 2008).

### 3.2 BLENDA DE AMIDO E POLI (ÁCIDO LÁTICO)

Blendas poliméricas constituem-se de misturas de dois ou mais polímeros sem que haja necessariamente uma relação ou reação química entre os mesmos. As blendas formadas pela combinação de biopolímeros possuem uma enorme importância em diversas áreas, pois é possível unir as propriedades de cada composto em um único material, melhorando assim as propriedades mecânicas, biológicas, físico-químicas e de processamento do mesmo (TONHI; PLEPIS, 2002). Com isso, um dos maiores desafios no desenvolvimento e comercialização de materiais biodegradáveis é o custo e sua viabilidade, frente a isso, o amido por ser abundante e de baixo custo, é uma excelente alternativa para a combinação com outros biopolímeros (SOARES, 2012).

O amido nativo possui uma ampla aplicação em indústrias têxtil, de papel, farmacêutica, plástica e alimentícia. Dentro deste contexto, a mandioca é uma das culturas agrícolas mais tradicionais no Brasil, tendo na região Sul grande

concentração de unidades processadoras de farinha e amido. O amido nativo de mandioca apresenta grande interesse industrial no que tange suas características físico-químicas (APLEVICZ; DEMIATE, 2007).

O PLA é um poliéster alifático, produzido de fontes renováveis, sendo, portanto facilmente biodegradado. Comercialmente, são obtidos pela polimerização de monômeros de ácido lático advindos da fermentação de açúcares presentes no milho, batata, beterraba e cana de açúcar (MARTIN; AVÉROUS, 2001). O PLA possui propriedades comparáveis às do polipropileno (PP) e poli (tereftalato de etileno) (PET), tais como transparência, boa processabilidade e elevada resistência à tração (MARTIN; AVÉROUS, 2001) e também apresentam muito pouca ou nenhuma toxicidade e elevado desempenho mecânico, comparável aos polímeros comerciais (YU; DEAN; LI, 2006).

Com isso, blendas de poli (ácido lático) e amido são interessantes, devido à sua biodegradabilidade, ser de fonte renovável e pelo auxílio na redução de custo frente ao alto valor do poli (ácido lático). A produção de blendas de amido e PLA pelo processo de extrusão tem sido alvo de estudo de diversos pesquisadores (SOARES et. al., 2013, SHIRAI et. al., 2015), mas grande parte dos materiais desenvolvidos não foi destinada para uma aplicação específica. Assim, estes materiais incorporados de aditivos possuem grande potencial para serem aplicados em alimentos (IMRAN et al., 2010).

### 3.3 NANOPARTÍCULAS DE PRATA

Desde a década passada é notável o crescente interesse da comunidade científica a respeito do ramo da nanociência no que se refere às intrigantes mudanças nas propriedades físicas de determinados sólidos, quando suas dimensões são reduzidas à escala manométrica e, também, à possibilidade de controle sobre os componentes estruturais de materiais e dispositivos em escalas de tamanhos inferiores àquelas convencionais (JEON et al., 2010).

Soluções coloidais de metais como prata e ouro são sistemas em nanoescala interessantes, devido à facilidade com que podem ser preparadas e modificadas quimicamente (FELDHEIM; FOSS Jr, 2002. DANIEL; ASTRUC, 2004). A prata



possui atividade antimicrobiana conhecida há muito tempo. Com um consequente aumento da área superficial, devido à diminuição dos tamanhos das partículas, sua característica antimicrobiana se torna mais efetiva (YOON et al., 2007) proporcionando um melhor contato com os microrganismos (KIM et al., 2007; RAI; YADAVAV; GADE, 2009). Assim, aumentando a reatividade química e a atividade biológica demonstrando ação contra as bactérias (FERNANDES, 2010).

Estudos revelam que os íons prata ( $Ag^+$ ) liberados a partir AgNPs (prata metálica) reagem com as proteínas das bactérias, pois estes possuem grande afinidade com grupos fosfatos e com ligações sulfídricas (-SH) (NETO, 2010). A reação da  $Ag^+$  com o grupo -SH, produz o grupo (-S $Ag$ ) muito estável na superfície bacteriana levando a inativação das proteínas (CHO; PARK; OSAKA, 2005). Quando as células bacterianas entram em contato com as nanopartículas a multiplicação celular pode ser inibida ou ocorrer lise celular (CASTELLANO et al., 2007).

Nanopartículas de prata estão sendo incorporadas em muitos materiais poliméricos, têxteis, resinas, cerâmicas, entre outros, conferindo propriedades antimicrobianas (SEGATTO, 2005). Quando esses metais são preparados na forma de nanopartículas, espera-se uma melhor característica antimicrobiana devido ao aumento da área de superfície (YOON et al., 2007).

Laminados de amido e PLA reticulados com nanopartículas de prata com propriedades antimicrobianas foram produzidas por Pizzoli (2014). Sánchez-Valdes et al. (2009) produziram um compósito de polietileno e nanopartículas de prata depositado em uma estrutura de filme com cinco camadas. Entretanto, não foi avaliada a aplicação desses materiais em alimentos.

### 3.4 EMBALAGENS ATIVAS PARA PRODUTOS CÁRNEOS

Embalagens ativas são atualmente uma das tecnologias mais dinâmicas usadas para preservar a qualidade dos alimentos através da liberação de agentes ativos por uma película na embalagem. A liberação de agentes ativos pode ser controlada por um longo período de tempo para manter ou aumentar a qualidade e vida de prateleira de produtos, sem a necessidade de adição direta de quaisquer substâncias ao alimento (LEE, 2010; ZHOU; XU; LIU, 2010).

A função principal das embalagens de alimentos é a de manter a qualidade e segurança dos produtos alimentares durante o armazenamento e transporte, e prolongar a vida de prateleira de produtos alimentares, impedindo o contato com fatores ou condições desfavoráveis, tais como microrganismos, contaminantes químicos, oxigênio, umidade, luz, etc (RHIM; PARK; HA, 2013).

Embalagens com propriedades antimicrobianas são uma nova opção para inibir o crescimento microbiano nos alimentos, mantendo a qualidade, frescor e segurança dos mesmos (APPENDINI; HOTCHKISS, 2002). Nesse contexto o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis ativas, com propriedades antimicrobianas, torna-se interessante (PIZZOLI, 2014). A estabilidade oxidativa de produtos cárneos pode ser estendida utilizando antioxidantes e materiais de embalagem adequados (ZHOU; XU; LIU, 2010).

Na literatura encontram-se disponíveis alguns trabalhos sobre o desenvolvimento e aplicação de embalagens ativas na conservação de produtos cárneos. Barbosa-Pereira et al. (2014) produziram filmes ativos a base de polietileno de baixa densidade (PEBD) contendo diferentes antioxidantes (extrato de alecrim e polivinilpirrolidona) para aplicação em bifos bovinos, e observaram que estes materiais reduziram a oxidação lipídica. Estudo similar foi feito por Lorenzo, Batlle e Gómez (2014) utilizando-se filmes com óleo essencial de orégano e extrato de chá verde na conservação de carne de cavalo.

Filmes biodegradáveis de carboximetilcelulose e poli (álcool-vinílico) adicionados de óleo essencial de alho auxiliaram na redução da contagem total de bactérias em carnes de frango (MUPALLA et al., 2014). Similarmente, nanocompósitos a base de PEBD e nanopartículas de óxido de zinco e prata (5 e 10% p/p) proporcionaram um efeito positivo na conservação de peito de frango, a partir da redução da contagem de microrganismos mesófilos além de minimizar a oxidação lipídica (PANEA et al., 2014).

## 4 MATERIAL E METÓDOS

### 4.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DO TRABALHO

A produção dos laminados de amido e PLA utilizados neste trabalho foram realizadas em extrusoras pertencentes ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR, Brasil. A aplicação das nanopartículas de prata nos materiais e avaliação da vida útil do presunto foram feitos nos laboratórios de Engenharia e Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão-PR, Brasil.

### 4.2 MATERIAL

Para a síntese das nanopartículas de prata foi utilizado amido solúvel (Synth, Brasil), D-glicose (Cinética, Brasil) e nitrato de prata (Proquimios, Rio de Janeiro). Os laminados foram produzidos com amido de mandioca (Indemil, Paranavai), glicerol (Dinâmica, São Paulo) e PLA Ingeo 4043D (Natureworks, LLC, Cargill, EUA). O presunto fatiado foi adquirido no comércio local da cidade de Campo Mourão-PR.

### 4.3 PRODUÇÃO DOS LAMINADOS DE AMIDO E POLI (ÁCIDO LÁTICO) POR EXTRUSÃO

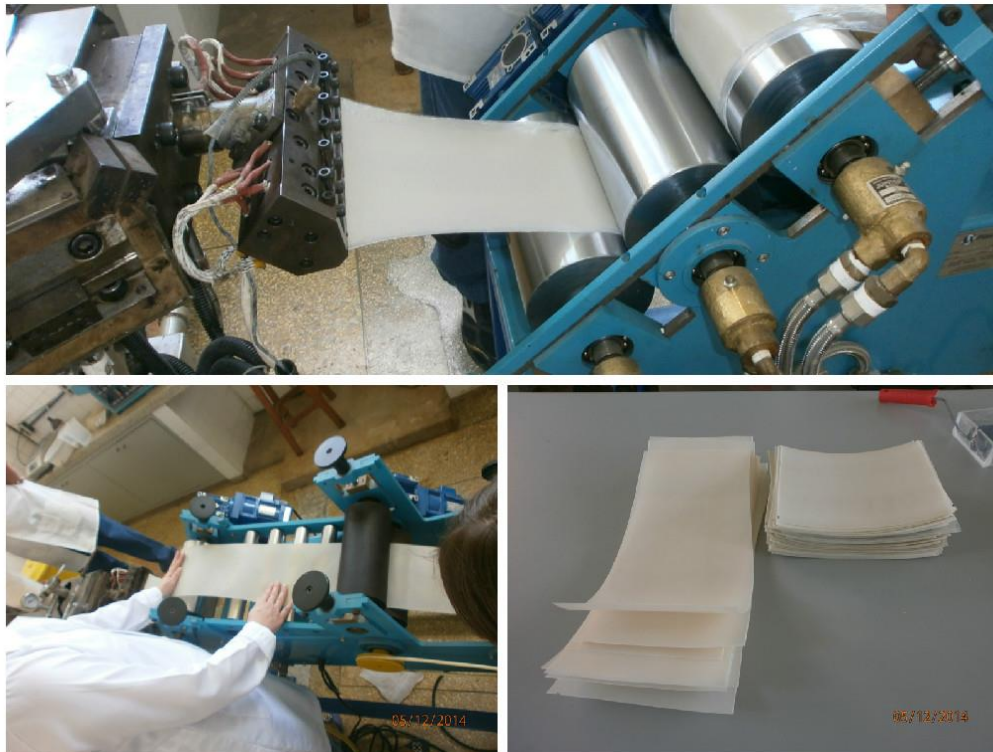
Os laminados de amido e PLA foram produzidos em escala piloto, pela técnica de extrusão plana (calandragem) (SHIRAI, 2013; SHIRAI et al., 2015). A formulação consistiu em 50 % de PLA, 37,5 % de amido de mandioca e 12,5 % de glicerol. Todos os materiais foram pesados, misturados manualmente em um béquer até homogeneização completa e posteriormente extrusados em forma de filamentos cilíndricos em extrusora mono-rosca (BGM, modelo EL-25, Brasil) com velocidade de

rotação do parafuso de 30 rpm e perfil de temperatura de 90 / 180 / 180 / 180 °C nas 4 zonas, como pode ser visto na Figura 1.



**Figura 1** – Processo de extrusão formando filamentos cilíndricos e os peletes.  
**Fonte:** Autoria Própria

Os filamentos cilíndricos foram peletizados e então processados na extrusora dupla-roscas (BGM, modelo D-20, Brasil) acoplada a uma calandra laminadora (AX-Plásticos, Brasil) para produzir os laminados como pode ser visto na Figura 2. O perfil de temperatura na mesma foi de 90 / 170 / 170 / 170 / 170 °C, as velocidades de rotação do parafuso e de alimentação foram de 100 rpm e 33 rpm, respectivamente. A distância entre os rolos da calandra foi de 0,8 mm.



**Figura 2** – Formação dos laminados.  
**Fonte:** Autoria Própria

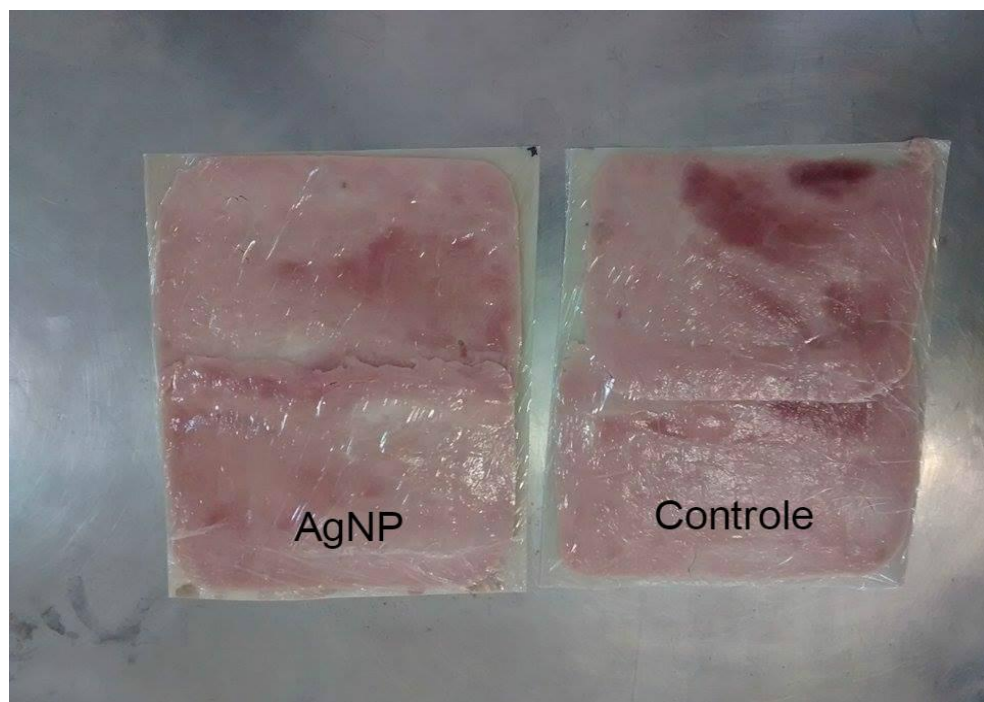
#### 4.4 SÍNTESE DAS NANOPARTÍCULAS DE PRATA (AgNPs)

As nanopartículas de prata (AgNPs) foram produzidas pela técnica do Polissacarídeo Modificada (GHASEMINEZHAD; HAMED; SHOJAOSADATI, 2012). Foram preparadas as soluções de nitrato de prata (0,0420 g em 10 mL de água Milli-Q) e de D-glicose (0,0450 g em 10 mL de água Milli-Q). Para a preparação da solução de amido foram pesados 0,5 g de amido solúvel e posteriormente solubilizados em 50 mL de água Milli-Q aquecida a 90 °C para gelatinização do amido. Com o auxílio de uma proveta 2 mL da solução de nitrato de prata e 4 mL da solução de D-glicose foram misturados aos 50 mL da solução de amido. A solução resultante foi autoclavada a 121 °C e 15 psi por 15 minutos (Primatec). Ao final do procedimento a solução apresentou coloração amarela, indicando a formação das AgNPs.

#### 4.5 APLICAÇÃO DAS AgNPs NOS LAMINADOS DE AMIDO E PLA E ARMAZENAMENTO DO PRESUNTO FATIADO

Para incorporação das AgNPs aos laminados, 32 mL de uma solução de água Milli-Q foi adicionada à solução final obtida na síntese das AgNPs (volume). A concentração final de AgNPs nesta solução foi escolhida devido à atividade antimicrobiana que apresentou no trabalho de Pizzoli (2014) que foi de  $135,62 \pm 1,28$  mg/L. A solução resultante foi então colocada em uma bandeja e os laminados previamente cortados (10 cm x 20 cm) foram mergulhados na solução por 30 segundos. Em seguida os laminados tratados com as AgNPs foram secos em estufa com circulação de ar (Cienlab, Brasil) a 40 °C por 12 horas.

Uma peça de presunto foi adquirida e foi fatiada no próprio supermercado. As fatias de presunto foram então dispostas sobre os laminados tratados com AgNPs, em seguida os mesmos foram revestidos com filme de PVC (Policloreto de Vinila) e armazenados em refrigerador (Electrolux Frost Free DF38) a 10 °C durante 10 dias, conforme apresentando na Figura 3. As análises físico-químicas e microbiológicas foram feitas nos tempos 0, 3, 6 e 10 dias.



**Figura 3** - Amostra de presunto fatiado com AgNP e amostra Controle.  
**Fonte:** Autoria Própria.

## 4.6 AVALIAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DO PRESUNTO FATIADO

### 4.6.1 Medida de Cor Objetiva ( $L^*$ , $a^*$ e $b^*$ )

A medida dos parâmetros de cor objetiva foi realizada com o colorímetro Mini Scan EZ (Hunter Lab). Os resultados foram expressos como  $L^*$  (que representa a porcentagem de luminosidade, 0= escuro e 100=claro),  $a^*$  (onde  $-a^*$  representa direção ao verde e  $+a^*$  direção ao vermelho) e  $b^*$  (onde  $-b^*$  representa direção ao azul e  $+b^*$  direção ao amarelo). Para cada tratamento, foi obtido o valor médio de três leituras em diferentes pontos da amostra (MANCINI; HUNT, 2005).

### 4.6.2 Determinação do pH

As medidas de pH foram realizadas em triplicatas com auxílio do potenciômetro de contato, marca Testo, de acordo com a metodologia sugerida por Olivo et al. (2001).

### 4.6.3 Determinação da Perda de Peso

As embalagens contendo o presunto fatiado foram pesadas em balança semi-analítica (Welmy, Brasil) e a perda de peso durante o armazenamento foi determinada utilizando-se a Equação 1:

$$PP = \frac{m_n}{m_o} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Sendo  $m_0$  a massa no tempo inicial de armazenamento (1º dia) e  $m_n$  a massa para os dias posteriores de análise ( $n = 3, 6$  e  $10$ ).

#### 4.6.4 Determinação da Oxidação Lipídica

Para a análise da oxidação lipídica, foi empregado o método de quantificação reativas ao ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS), segundo a metodologia prescrita por Bruna et al. (2001) e Hoz et al. (2004), com algumas modificações feitas por Almeida (2013). Os aldeídos foram extraídos através do preparo de um extrato ácido-aquoso, homogeneizado por 5 minutos em um agitador mecânico (Phoenix, Araraquara-SP, Brasil) com velocidade variável, composto por 5 mg de amostra triturada, 25 mL de tricloroacético 7,5% (Dinâmica, São Paulo). Depois de homogeneizado, foi filtrado em papel filtro e uma alíquota de 5 mL do extrato foi colocado dentro de um tubo de ensaio e adicionado 5 mL de solução de ácido 2-tiobarbitúrico – TBA a 0,02mol/L (Alfa Aesar, EUA), e aquecido em banho-maria por 40 minutos a 100 °C. Durante o aquecimento ocorreu a formação do complexo colorido (Figura 4), onde a absorbância foi avaliada em espectrofotômetro UV/visível (Femto), no comprimento de onda de 538nm. Para a quantificação do complexo colorido, foi necessário a elaboração de uma curva padrão, sendo utilizado o composto padrão 1,1,2,2 tetraetoxipropano – TEP (Sigma Aldrich, Brasil) cuja hidrólise ácida gerou o malonaldeído na proporção de 1:1 mol. A concentração de TEP ( $\mu\text{mol/L}$ ) de cada ponto da curva foi calculada de acordo com a massa inicial de TEP da solução inicial. Os resultados foram obtidos com diferentes concentrações de TEP sendo plotado em gráfico de dispersão, com regressão linear, obtendo-se a equação da reta. Os resultados foram expressos em mg MDA/kg presunto.





**Figura 4** – Formação do complexo colorido.  
**Fonte:** Autoria Própria

#### 4.6.5 Contagem de Coliformes Totais e Termotolerantes

Para realizar a diluição das amostras seguiu-se os métodos analíticos oficiais da Instrução Normativa Nº62/2003 onde foram pesados aproximadamente 25 gramas do presunto fatiado em sacos de “stomacher” esterilizados e adicionou-se 225 mL de solução salina peptonada 0,1% e homogeneizado por 60 segundos em stomacher (ITR, Brasil). Essa foi a diluição  $10^{-1}$  e a seguir, foram preparadas diluições decimais  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ .

A determinação do número mais provável de coliformes foi realizada pelo método dos tubos múltiplos utilizando Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) para prova presuntiva e Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante (VBB) para coliformes totais, e para determinação de coliformes termotolerantes foi empregado Caldo EC (*Escherichia coli*). Aliquotas de 1 mL de cada diluição preparadas foram transferidas para séries de três tubos contendo LST com tubos de Durham invertidos. Os tubos foram incubados a 36 °C durante 24 e 48 horas, e uma alçada de cada tubo apresentando crescimento e produção de gás foi semeada em tubos contendo VBB e EC, com tubos de Durham invertidos. Os tubos de VBB foram incubados a 36 °C por 24 e 48 horas, enquanto os tubos de EC foram incubados por 24 e 48 horas a 45 °C em banho-maria. A formação de gás nos tubos VBB indicou a presença de

coliformes totais, e nos tubos de EC é considerada confirmativa da presença de coliformes termotolerantes. Os resultados foram expressos em NMP/g de presunto.

#### 4.6.6 Contagem Total de Mesófilos Aeróbios Estritos e Facultativos e Psicrotróficos

Diluições seriais da amostra de presunto previamente preparada foram utilizadas para a contagem de psicrotróficos, pelo método de plaqueamento em superfície em ágar padrão - PCA e incubação a 7 °C por 10 dias. A contagem de mesófilos aeróbios estritos e facultativos foi feita pelo método de plaqueamento em profundidade em ágar padrão - PCA e incubação a 36 °C por 48 horas (SILVA et al., 2007). Os resultados das contagens foram expressos em UFC/g.

#### 4.6.7 Análise dos Dados

Os resultados foram avaliados por teste T-student ao nível de 10% de significância ( $p < 0,10$ ) utilizando-se o programa STATISTICA 7.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 AVALIAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS

#### 5.1.1 Determinação de pH e Oxidação Lipídica

Os resultados de pH e oxidação lipídica dos presuntos armazenados em embalagens biodegradáveis durante 10 dias estão apresentados na Tabela 1. Observou-se que no 3º dia de armazenamento a amostra AgNP apresentou um pH inferior que a amostra controle. Possivelmente tal comportamento é o resultado do crescimento de bactérias lácticas, que produzem ácido láctico e reduzem o pH do meio. Já no tempo 6 de armazenamento a amostra controle apresentou um pH inferior em relação à amostra AgNP, e para o tempo 10 de armazenamento as amostras não diferiram estatisticamente entre si ao nível de 10% pelo teste t-Student.

**Tabela 1** – Valores de pH e oxidação lipídica em presunto fatiado armazenado em embalagens ativas biodegradáveis por 10 dias.

Tempo (dias)	pH		Oxidação lipídica (mg MDA/kg presunto)	
	AgNP	Controle	AgNP	Controle
0	6,24 ± 0,01 <sup>a</sup>	6,24 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,6934 ± 0,003 <sup>a</sup>	0,6934 ± 0,003 <sup>a</sup>
3	5,08 ± 0,01 <sup>a</sup>	5,14 ± 0,03 <sup>b</sup>	2,6590 ± 0,081 <sup>a</sup>	2,1910 ± 0,204 <sup>a</sup>
6	5,37 ± 0,09 <sup>b</sup>	5,20 ± 0,05 <sup>a</sup>	5,4022 ± 0,122 <sup>b</sup>	3,5302 ± 0,102 <sup>a</sup>
10	5,51 ± 0,12 <sup>a</sup>	5,35 ± 0,23 <sup>a</sup>	8,7970 ± 1,563 <sup>b</sup>	3,9010 ± 0,188 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup> Letras diferentes na mesma linha, para cada análise, indicam diferença significativa ( $p < 0,10$ ) pelo teste t-Student.

O pH de um determinado meio pode interferir de maneira significativa no crescimento e no desenvolvimento de microrganismos (MOREIRA, 2012) e devido a produção de aminas e amônia no produto cárneo o pH pode sofrer um aumento no

decorrer da estocagem, sendo uma análise importante para avaliar a qualidade comercial do produto (LAZLO; BASSO; COELHO, 1986). Um baixo valor de pH pode ocasionar a oxidação da mioglobina interferindo também na cor do produto.

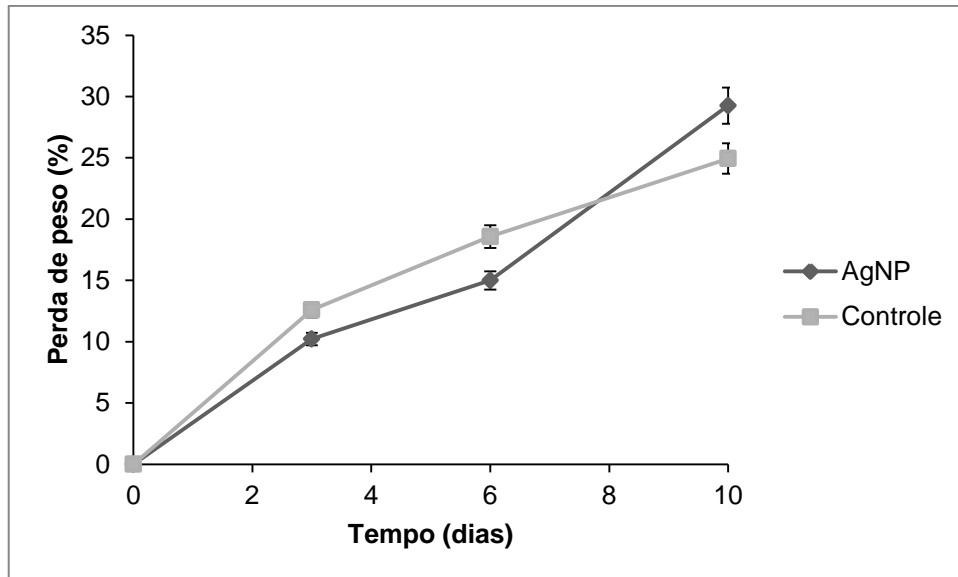
Ainda de acordo com a Tabela 1, tem-se que a oxidação lipídica no tempo inicial de armazenamento e no tempo 3 as amostras não apresentaram diferença significativa ( $p < 0,10$ ). Nos tempos 6 e 10 de armazenamento a amostra AgNP apresentou uma maior taxa de oxidação que pode estar ligado a diversos fatores como as condições e tempo de armazenamento, o processamento, os aditivos adicionados e o conteúdo de ácidos graxos insaturados na fração lipídica (CHIZZOLINI; NOVELLI; ZANARD, 1998) e o sabor e odor desagradáveis são característicos dos ácidos graxos livres de menor peso molecular (GAVA, 1978).

Comportamento diferente foi observado em peitos de frango, onde os nanocompósitos a base de PEBD e nanopartículas de óxido de zinco e prata (5 e 10% p/p) minimizaram a oxidação lipídica (PANEA et al., 2014)

A oxidação lipídica pode apresentar danos à saúde humana, devido à formação de moléculas tóxicas, causando também a degradação do ácido graxo insaturado em produtos secundários e alterando as características sensoriais dos alimentos. Segundo Torres & Okani (1997) valores de TBARS até 1,59 mg de aldeído malônico.kg<sup>-1</sup> de amostra são considerados baixos para serem percebidos por análise sensorial e não causam alarme para saúde do ser humano.

### 5.1.2 Avaliação de Perda de Peso

Para a avaliação de perda de peso observou-se na Figura 5 que a amostra AgNP apresentou menor perda de peso até o 6º dia de avaliação, sendo de 14,9% para a AgNP e de 18,6% para o controle. Ao final do experimento a amostra AgNP teve uma perda de peso média de 29,2% e o controle de 24,9%. Valores de perda de peso próximos ao obtidos neste trabalho foram observados em cracóvia adicionados de extrato de acerola (ALMEIDA, 2013) e em presunto cru (BERGAMIN FILHO et al., 2010).



**Figura 5** – Perda de peso em presunto fatiado armazenado em embalagens ativas biodegradáveis por 10 dias.

### 5.1.3 Avaliação da Cor

Os parâmetros de cor estão apresentados na Tabela 2, onde é possível observar que para o parâmetro  $L^*$  a amostra AgNP diferiu estatisticamente ( $p < 0,10$ ) da amostra controle, apresentando menores valores que indicam o escurecimento da amostra. Já o parâmetro  $a^*$  obteve diferença somente no 3º dia de armazenamento, com a amostra AgNP sendo maior que a amostra controle, e para o parâmetro  $b^*$  não houve diferença significativa ( $p < 0,10$ ) entre as amostras durante todo o período de análise.

A oxidação da cor pode estar diretamente correlacionada com a oxidação lipídica, causando alteração na cor do produto negativamente. Uma vez que, o átomo de ferro ou a molécula de mioglobina desnaturada podem ser oxidados com os radicais livres gerados na oxidação lipídica (MONAHAN et al., 1993) e também a prata presente na amostra AgNP pode ter interferido para que a oxidação da cor ocorresse de uma forma mais acelerada pelo alto teor de água do presunto. Porém, outros fatores que também possivelmente interferiram, aumentando a velocidade de oxidação da mioglobina, foi temperatura de estocagem e também o pH baixo que a amostra AgNP apresentou no seu 3º dia de armazenamento.

**Tabela 2** – Parâmetros de cor em presunto fatiado armazenado em embalagens ativas biodegradáveis por 10 dias.

		0	3 dias	6 dias	10 dias
<b>L</b>	AgNP	60,49 ± 6,75 <sup>a</sup>	60,75 ± 3,03 <sup>a</sup>	60,25 ± 2,58 <sup>a</sup>	55,27 ± 4,99 <sup>a</sup>
	Controle	60,49 ± 6,75 <sup>a</sup>	62,93 ± 1,48 <sup>b</sup>	62,47 ± 1,87 <sup>b</sup>	61,99 ± 2,32 <sup>b</sup>
<b>a</b>	AgNP	13,61 ± 3,28 <sup>a</sup>	14,19 ± 1,24 <sup>b</sup>	17,81 ± 1,32 <sup>a</sup>	18,35 ± 3,05 <sup>a</sup>
	Controle	13,61 ± 3,28 <sup>a</sup>	12,96 ± 1,57 <sup>a</sup>	16,86 ± 2,35 <sup>a</sup>	16,31 ± 2,25 <sup>a</sup>
<b>b</b>	AgNP	12,31 ± 0,96 <sup>a</sup>	12,43 ± 0,93 <sup>a</sup>	20,16 ± 1,92 <sup>a</sup>	18,70 ± 2,25 <sup>a</sup>
	Controle	12,31 ± 0,96 <sup>a</sup>	12,88 ± 1,22 <sup>a</sup>	21,00 ± 2,32 <sup>a</sup>	19,55 ± 2,66 <sup>a</sup>

<sup>a, b</sup> Letras diferentes na mesma coluna, para cada parâmetro, indicam diferença significativa ( $p < 0,10$ ) pelo teste t-Student.

## 5.2 AVALIAÇÕES MICROBIOLÓGICAS

A contagem total de microrganismos psicotróficos e mesófilos abrangem vários microrganismos e avaliam a qualidade microbiológica dos alimentos. Os resultados para esta análise estão apresentados na Tabela 3.

Para a contagem de microrganismos psicotróficos tem-se que no tempo inicial e no 10° dia de armazenamento as amostras não diferiram significativamente entre si ( $p < 0,10$ ). Já no 3° dia de armazenamento a amostra AgNP apresentou contagem elevada em relação a amostra controle, demonstrando que o pH obtido neste mesmo tempo de armazenagem e na mesma amostra podem estar relacionado devido a uma possível produção elevada de bactérias ácido lácticas na amostra. Para o 6° dia de armazenamento a contagem na amostra AgNP foi reduzida em relação a amostra controle, mostrando o efeito antimicrobiano da prata.

Para a contagem de microrganismos mesófilos aeróbios as amostras analisadas não diferiram estatisticamente ( $p < 0,10$ ) no tempo inicial e no 3° dia de armazenamento. Somente no 6° dia de armazenamento a amostra AgNP se mostrou com contagem inferior que a amostra controle diferindo estatisticamente ( $p < 0,10$ ) entre si. Para o 10° dia de armazenamento a contagem se apresentou incontável pelo crescimento elevado de colônias.

Em trabalho realizado por Fachinello e Casaril (2013) em presuntos fatiados, a contagem de mesófilos aeróbios foi de  $2,5 \times 10^1$  a  $2,6 \times 10^4$  UFC g<sup>-1</sup>, esta foi uma

contagem inferior comparada com os resultados deste estudo. Bressan et al. (2007) também obtiveram valores de contagem de mesófilos aeróbios inferiores ao utilizar embalagens com atmosferas modificadas. A contagem foi de  $2 \times 10^2$  UFC/g para os presuntos envasado sob atmosfera modificada e  $< 10^1$  UFC/g para presuntos embalados a vácuo.

Contagem elevadas de mesófilos aeróbios (maiores que  $10^7$  UFC/g) podem indicar condições inadequadas de temperatura de armazenamento, ou falha em alguma das fases do processamento como fatiamento ou embalagem do produto, possibilitando a multiplicação de microrganismos patogênicos e deteriorantes (FRANCO; LANDGRAF, 2002; BRESSAN et al., 2007).

**Tabela 3** – Avaliações microbiológicas em presunto fatiado durante o armazenamento em embalagens ativas biodegradáveis por 10 dias.

Tempo (dias)	Psicrotróficos (UFC/g)		Mesófilos (UFC/g)	
	AgNP	Controle	AgNP	Controle
0	$6,5 \times 10^{3a}$	$6,5 \times 10^{3a}$	$1,4 \times 10^{4a}$	$1,4 \times 10^{4a}$
3	$2,5 \times 10^{5b}$	$5,7 \times 10^{4a}$	$4,1 \times 10^{5a}$	$4,2 \times 10^{5a}$
6	$3,9 \times 10^{5a}$	$6,8 \times 10^{5b}$	$7,4 \times 10^{7a}$	$4,1 \times 10^{8b}$
10	$7,4 \times 10^{5a}$	$8,7 \times 10^{5a}$	<i>Inc.</i>	<i>Inc.</i>

<sup>a, b</sup> Letras diferentes na mesma linha, para cada microrganismo, indicam diferença significativa ( $p < 0,10$ ) pelo teste t-Student.

O índice de coliformes totais avalia as condições higiênicas, sendo que altas contagens podem ser ocasionados por falhas durante o processamento ou estocagem. E a presença de coliformes termotolerantes, e principalmente de *Escherichia coli* evidencia condições higiênico-sanitárias inadequadas. Os resultados das análises de Coliformes estão apresentados na Tabela 4.

Podemos observar que na análise de coliformes totais as amostras com AgNP apresentaram valores inferiores comparado à amostra controle durante os tempos 3 e 6 dias de armazenamento, e obtiveram o mesmo resultado nos tempos zero e ao 10º dia de armazenamento. Tanto a amostra AgNP como a amostra controle obtiveram contagem para coliformes termotolerantes  $< 3$  NMP/g, sendo um resultado satisfatório pois, estão dentro do que a legislação determina, onde a tolerância para amostra indicativa é de  $10^3$  e a tolerância para amostra

representativa é de  $n= 5$ ,  $c= 2$ ,  $m= 10^2$  e  $M= 10^3$  (BRASIL, 2001). Para Bressan et al. (2007) as análises de coliformes totais e termotolerantes apresentaram contagem  $<10^1$  NMP/g em presuntos fatiados envasados em diferentes embalagens.

**Tabela 4** – Contagem de Coliformes totais e termotolerantes de presunto fatiado durante o armazenamento em embalagens ativas biodegradáveis por 10 dias.

Tempo (dias)	Coliformes totais (NMP/g)		Coliformes termotolerantes (NMP/g)	
	AgNP	Controle	AgNP	Controle
0	43	43	<3	<3
3	43	75	<3	<3
6	23	75	<3	<3
10	23	23	<3	<3

Avaliando de uma forma geral os resultados da avaliação microbiológica, as embalagens ativas biodegradáveis contendo AgNP se mostrou eficaz na redução da contagem de psicrotóxicos, mesófilos e coliformes totais durante o armazenamento refrigerado.



## 6 CONCLUSÃO

Com este trabalho concluiu-se que a embalagem biodegradável ativa á base de amido, PLA e AgNP reduziu a perda de peso, a contagem de microrganismos psicrotróficos, mesófilos e coliformes totais até o 6° dia de armazenamento. Entretanto, as AgNP interferiram de forma significativa na oxidação lipídica e também na coloração do presunto. Desta forma, estudos ainda são necessários para viabilizar o uso desta embalagem em escala comercial, e novos produtos devem ser testados.

## 7 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. M. C. **Utilização de acerola em pó microencapsulada como substituta de antioxidante sintético em cracóvia**. 26 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2013.
- AN, J.; ZHANG, M.; WANG, S.; TANG, J. Physical, chemical and microbiological changes in stored green asparagus spears as affected by coating of silver nanoparticles-PVP. **Food Science and Technology**, v. 41, p. 1100–1107, 2008.
- ANDRADE-MOLINA, T. P. C.; SHIRAI, M. A.; GROSSMANN, M. V. E.; YAMASHITA, F. Active biodegradable packaging for fresh pasta. **LWT – Food Science and Technology**, v. 54, p. 25-29, 2013.
- APLEVICZ, K. S.; DEMIATE, I. M. Caracterização de amidos de mandioca nativos e modificados e utilização em produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 105-111, 2007.
- APPENDINI, P.; HOTCHKISS, J. H. Imobilização de lisozima de polímeros em contato com alimentos, como potenciais filmes antimicrobianos. **Packaging Technology and Science**, v.10, n. 5, p. 271-279, 2002.
- BARBOSA-PEREIRA, L.; AURREKOETXEA, G. P.; ANGULO, I.; PASEIRO-LOSADA, P.; CRUZ, J. M. Development of new active packaging films coated with natural phenolic compounds to improve the oxidative stability of beef. **Meat Science**, v. 97, p. 249-254, 2014.
- BERGAMIN FILHO, W.; COSTA, M. R.; FELÍCIO, P. E.; SILVEIRA, E. T. F. Método acelerado de processamento de presunto cru. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 494-500, 2010.
- BORDES, P.; POLLET, E.; AVEROUS, L. Nano-biocomposites: Biodegradable polyester/nanoclay systems. **Progress in Polymer Science**, v. 34, p. 125–155, 2009.
- BRASIL. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Resolução RDC 12, de 02 de Janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 20, de 31 de julho de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade de presunto. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 03 ago. 2000. p.7.
- BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 18 de setembro de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília. 2003.

BRESSAN, M. C.; LODI, F.; FERREIRA, M. W.; ANDRADE, P. L.; BOARI, C. A.; PICCOLI, R. H. Influência da embalagem na vida útil de presuntos fatiados. **Ciência e agrotecnologia**, v. 31, n. 2, p. 433-438, 2007.

BREWER, M.S.; NOVAKOFSKI, J.; FREISE, K. Instrumental evaluation of pH effects on ability of pork chops to bloom. **Meat Science**, v.72, n.4, p.596-2002, 2006.

BRUNA, J. M.; ORDÓÑEZ, J. A.; FERNÁNDEZ, M.; HERRANZ, B.; de la HOZ, L. Microbial and physico-chemical changes during the ripening of dry fermented sausages superficially inoculated with or having added an intracellular cell-free extract of *Penicillium aurantiogriseum*. **Meat Science**, Oxford, v.59, p.87-96, 2001.

CASTELLANO, J. J.; SHAFII, S. M.; KO, F.; DONATE, G.; WRIGHT, T. E.; MANNARI, R. J.; PAYNE, W. G.; SMITH, D. J.; and ROBSON, M. C. Comparative evaluation of silver containing antimicrobial dressings and drugs. **International Wound Journal**, p. 114–122, 2007.

CHIZZOLINI, R.; NOVELLI, E.; ZANARD, E. Oxidation in traditional mediterranean meat products. **Meat Science**, Oxford, v. 49, n. 1, p. 87-99, 1998. Supplement.

CHMIELEWSKI, R. A. N.; FRANK, J. F. Biofilm formation and control in food processing facilities. **Comprehensive Review in Food Science and Food Safety**, v. 2, p. 22-32, 2003.

CHO, K.; PARK, J.; OSAKA, T. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. **Electrochimica Acta**, v.51, p. 956–960, 2005.

COSTA, M. R.; BERGAMIN FILHO, W.; CIPOLLI, K. M. V. A. B.; SILVEIRA, E. T. F.; FELÍCIO, P. E. Perfil sensorial e aceitação de presuntos crus produzidos por métodos tradicionais e acelerado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p.170-176, 2007.

DANIEL, M.; ASTRUC, D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. **Chemical Reviews**, v.104, p. 293-346, 2004.

FACHINELLO, J. P.; CASARIL, K. B. P. B. Qualidade de presuntos fatiados. **Alimentos e Nutrição – Brazilian Journal of Food Nutrition**, v.24, n.3, p. 333-337, 2013.

FELDHEIM, D. L.; FOSS Jr, C. A. **Metal Nanoparticles – Synthesis, Characterization, and Applications**. New York: Marcel Dekker, 2002.

FERNANDES, P. E. **Novo método de síntese de nanopartículas de prata e avaliação de seu efeito antimicrobiano**. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, MG, 2010.

FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2002. 182p.

- GAVA, A.J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São Paulo: Nobel, 1978, 286p.
- GHASEMINEZHAD, S. M.; HAMED, S.; SHOJAOSADATI, S. A. Green synthesis of silver nanoparticles by a novel method: Comparative study of their properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, p. 467–472, 2012.
- GONÇALVES, J. R. Classificação dos embutidos cárneos. In: LEMOS, A.L.S.C.; YAMADA, E.A.; HAGUIWARA, M.M.H. (Ed.). **Processamento de embutidos cárneos**. Campinas: CTC-ITAL, 2008, p. 7-17.
- HERAS, A. de las; SCHOCH, A.; GIBIS, M.; FISCHER, A. Comparison of methods for determining malonaldehyde in dry sausages by HPLC and the classic TBA test. **European Food Research and Technology**, New York, v. 217, p. 180-184, 2003.
- HOLLEY, R. A. Impact of slicing hygiene upon shelf life and distribution of bacteria in vacuum packaged cured ham. **Food Microbiology**, Winnipeg, v. 14, p. 201-211, 1997.
- HONIKEL, K.O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Science**, v.49, n.4, p.447-457, 1998.
- IMRAN, H.; REVOL-JUNELLES, A. M.; MARTYN, A.; TEHRANY, E. A.; JACQUOT, M.; LINDER, S. Desobry Active food packaging evolution: transformation from micro- to nanotechnology. **Critical Review Food Science**, v. 50, p. 799–821, 2010.
- JEON, S.; XU, P.; MACK, N. H.; CHIANG, L. Y.; BROWN, L.; WANG, H.; J. Understanding and controlled growth of silver nanoparticles using oxidized N-methylpyrrolidone as a reducing agent, **Physical Chemistry C**, v. 114, p. 36-40, 2010.
- KIM, J. S.; KUK, E.; YU, K. N.; KIM, J. H.; PARK, S. J.; LEE, H. J.; KIM, S. H.; PARK, Y. K.; PARK, Y. H.; HWANG, C. Y. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. **Nanomedicine nanotechnology biology and medicine**, p.95–101, 2007.
- KUMAR, R., MUNSTEDT, H. Silver ion release from  $\epsilon$  antimicrobial polyamide/silver composites. **Biomaterials**, v.26, p. 2081- 2088, 2005.
- LAWRIE, R.A. **Ciência da Carne**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 384p.
- LAZLO, H.; BASSO, L.; COELHO, M. C. Química de alimentos e alterações dos componentes orgânicos. São Paulo: Nobel, 1986. Cap. 2, 98p. LIEPE, H.U. Starter Culture in Meat Production. In: REHN, H. I.; REED, G. **Biotechnology**. Flórida: Verlagchemie, 1983. p. 409-417
- LEE, K. T. (2010). Quality and safety aspects of meat products as affected by various physical manipulations of packaging materials. **Meat Science**, 86, 138–150.

LINDAHL, G.; KARLSSON, A.H.; LUNDSTROM, K.; ANDERSEN, H.J. Significance of storage time on degree of blooming and colour stability of pork loin from different crossbreeds. **Meat Science**, v.72, n.4, p. 603-612, 2006.

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

MANCINI, R.A.; HUNT, M.C. Review: Current research in meat color. **Meat Science**, Oxford, v. 71, n.1, p.100-121, Sept. 2005.

MANSO, I. J. **Avaliação do crescimento de bactérias ácido lácticas em salsichas recobertas com filme comestível contendo nanopartículas de prata**. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

MARTIN, O.; AVÉROUS, L. Poly (lactic acid): plasticization and properties of biodegradable multiphase systems. **Polymer**, v. 42, p. 6209-6219, 2001.

MONAHAN, F.J.; CRACKEL, R.L.; GRAY, J.I.; BUCKLEY, D.J.; MORRISSEY, P.A. Catalysis of lipid oxidation in muscle model systems by ham and inorganic iron. **Meat Science**, Oxford, v.34, n.1, p. 95-106, 1993.

MOREIRA, P. B. **Validade comercial de presunto de peru fatiado e embalado em atmosfera modificada**. 53 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2012.

MUPALLA, S. R.; KANATT, S. R.; CHWLA, S. P.; SHARMA, A. Carboxymethyl cellulose-polyvinyl alcohol films with clove oil for active packaging of ground chicken meat. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 2, p. 51-58, 2014.

NETO, A. E. **Desenvolvimento de nanobiocompósitos contendo nanopartículas de prata para aplicações bactericidas**. Programa de Pós-Graduação em Física da Universidade de São Paulo, São Carlos, SP, 2010.

OLIVEIRA, L. A. T. et al. Biofilme na indústria de alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 20, p. 33-35, 2006.

OLIVO, R.; SOARES, A. L.; IDA, E. I.; SHIMOKOMAKI, M. Dietary vitamin e inhibits poultry pse and improves meat functional properties. **Journal of Food Biochemistry**, v.25, n. 4, 271-283, 2001.

OLIVO, R. Alterações oxidativas em produtos cárneos. In: SHIMOKOMAKI, M. et al. (Ed.). **Atualidades em ciência e tecnologia de carnes**. São Paulo: Varela, 2006. cap. 15, p. 155-162.

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

PANEA, B.; RIPOLL, G.; GONZÁLEZ, J.; FERNÁNDEZ-CUELLO, A.; ALBERTÍ, P. Effect of nanocomposite packaging containing different proportions of ZnO and Ag on chicken breast meat quality. **Journal of Food Engineering**, v. 123, p. 104-112, 2014.

PIZZOLI, A. P. O. **Produção e caracterização de laminados biodegradáveis e antimicrobianos para embalagens de alimentos**. 80 f. Dissertação. (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

RAI, M.; YADAVAV, A.; GADE, A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. **Biotechnology Advances**, v. 27, p. 76–83, 2009.

RHIM, J. W.; PARK, H. M.; HA, C. S. Bio-nanocomposites for food packaging applications. **Progress in Polymer Science**, v.38, n.10-11, p. 1629–1652, 2013.

ROBERTSON, G.L. **Food Packaging: Principles and practice**. Boca Raton – FL: CRC Press, 550 p. 2006.

RÓZ, A. L.; CARVALHO, A. J. F.; MORAIS, L. C.; CURVELO, A. A. S. Comportamento térmico e de absorção de umidade de amidos plastificados com glicóis – **Anais do 6º Congresso Brasileiro de Polímeros** – Gramado, RS, 2001.

SÁNCHEZ-VALDES, S., ORTEGA-ORTIZ, H., RAMOS-DE VALLE, L F.; MEDELLÍN-RODRÍGUEZ, F. J.; ÁGUEDA-MIRANDA, R. Mechanical and antimicrobial properties of multilayer films with a polyethylene/silver nanocomposite layer. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 111, p. 953–962, 2009.

SEGATTO, C. – "O nanomundo de cada dia", **Revista Época**, n. 397, p. 26-31, 2005.

SHIRAI, M. A. **Desenvolvimento de materiais biodegradáveis a base de amido e poli (ácido láctico) produzidos por extrusão termoplástica**. 156 f. Tese. (Doutorado em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

SHIRAI, M. A.; GROSSMANN, M. V. E.; MÜLLER, C. M. O.; YAMASHITA, F. Adipate and citrate esters as plasticizers for poly(lactic acid)/thermoplastic starch sheets. **Journal of Polymers and the Environment**, 2015.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 3 ed, 2007. 552p.

SOARES, F. C. **Laminados de Poli (ácido láctico) / Amido termoplástico recobertos com quitosana reticulada: Obtenção e Avaliação das Propriedades Físico-Químicas**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.

SOARES, F. C.; YAMASHITA F.; MULLER, C. M. O.; PIRES, A. T. N. Thermoplastic starch/poly (lacticacid) sheets coated with cross-linked chitosan. **Polymer Testing**, v. 32, p. 94-98, 2013.

SUPPAKUL, P.; MILTZ, J.; SONNEVELD, K.; BIGGER, S. W. Active packaging technologies with an emphasis on antimicrobial packaging and its applications. **Journal of Food Science**, v. 68, n. 2, p. 408–420, 2003.

TONHI, E.; PLEPIS, A. M. G. Obtenção e caracterização de blendas colágeno-quitosana. **Química Nova**, v. 25, n. 6, p. 943-948, 2002.

TORRES, E. A. F. S.; OKANI, E. T. Teste de TBA: Ranço em alimentos. **Revista Nacional da Carne**, v. 243, p. 68-76, 1997.

VERMEIREN, L.; DEVLIEGUERE, F.; DEBEVERE, J. Effectiveness of some recent antimicrobial packaging concepts. **Food Additives Contaminants**, v. 19, p. 163–171, 2002.

WORK, W. J.; HORIE, K.; HESS, M.; STEPTO, R. F. T. Definitions of terms relate to polymer blends, composites and multiphase polymeric materials. **Pure of Applied Chemistry**, v. 76, p. 1985-2007, 2004.

YAM, K. L.; TAKHISTOV, P. T.; MILTZ, J. Intelligent Packaging: Concepts and applications. **Journal of Food Science**, v. 70, p. 1-9, 2005.

YOON, K.; BYEON, J. H.; PARK, J.; HWANG, J. Susceptibility constants of Escherichia coli and Bacillus subtilis to silver and copper nanoparticles, **Science of the Total Environment**, v.373, 572–575, 2007.

YU, L.; DEAN, K.; LI, L. Polymer blends and composites from renewable resources. **Progress in Polymer Science**, v.31, p. 576–602, 2006.

ZHOU, G. H.; XU, X. L.; LIU, Y. Preservation technologies for fresh meat — A review. **Meat Science**, v. 86, p. 119–128, 2010.