

Efecto del masajeado con CaCl_2 y aceite de romero sobre la terneza y la actividad bacteriana del corte de carne tipo churrasco Argentino

The effect of massaging with CaCl_2 and rosemary oil on the tenderness and the bacterial activity of the meat cutsof Argentinean steak type

**Baleta M. Luis C.^{1*}
Duran O. Daniel S.²**

¹ *Facultad de Ingenierías y Arquitectura, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad de Pamplona.*

² *Facultad de Ingenierías y Arquitectura, Grupo GINTAL, Universidad de Pamplona, Km 1 Vía Bucaramanga, Pamplona, Norte de Santander, Colombia*

Recibido 5 de Junio 2010; aceptado 18 de Septiembre de 2010

RESUMEN

*La terneza es una de las características organolépticas que mayor influencia tiene en el momento de comercializar un corte de carne por parte de los consumidores, al igual la inocuidad resulta ser un parámetro de aceptación de buena calidad. La aplicación de sales y aceites esenciales ha contribuido a mejorar las condiciones iniciales de la carne, en este estudio se empleo diferentes concentraciones de CaCl_2 y de aceite de romero aplicados a cortes de churrasco argentino sometidos a masajeo con el fin de mejorar su terneza y de evidenciar la actividad bacteriana inicial. Se masajearon los cortes de carne a una velocidad de 24 rpm en contacto con las diferentes soluciones, luego se determinaron los valores de corte con una cizalla Warner bratzler y se realizo conteo de la población bacteriana *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella spp* y *E. C. S. R*. Se evidencio mayor efecto inhibitorio del aceite de romero con respecto al CaCl_2 , asimismo no se presento ningún efecto sobre la terneza con las soluciones analizadas*

*Autor a quien debe dirigirse la correspondencia. E-mail: danielduran@unipamplona.edu.co

Palabras clave: aceite de romero, actividad bacteriana, churrasco argentino, cloruro de calcio, ternera.

ABSTRACT

*Tenderness is one of the most influential organoleptic characteristics at the time of selling a cut of meat to consumers, as well as the safety is a parameter of acceptance of good quality. The application of salts and essential oils has helped to improve the initial conditions of the meat, in this study there were used different concentrations of CaCl_2 and rosemary oil applied to Argentinean steak cuts that underwent a massage to improve its tenderness and to demonstrate the initial bacterial activity. The meat cuts were massaged at a speed of 24 rpm in contact with the different solutions, then cutoff values were determined with a Warner Bratzler shear and counting was performed of the bacterial population: *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella spp* and *E. C. S. R.* It was noticed a greater inhibitory effect of the rosemary oil regarding to the CaCl_2 , at the same time it did not show any effect on the tenderness with the analyzed solutions.*

Keywords: Argentinean steak, rosemary oil, calcium chloride, tenderness, bacterial activity.

INTRODUCCIÓN

La aceptación por parte de los consumidores a la hora de escoger un corte de carne, fija su atención en factores como: apariencia, precio de compra, aroma y sabor, facilidad de preparación, ternera, jugosidad y valor nutritivo. La calidad de la carne puede ser definida como una combinación de diversas propiedades de carne fresca y procesada. Estas propiedades contienen características sensoriales y aspectos tecnológicos, tales como el color, capacidad de retención de agua, pérdidas por cocción y textura. Así mismo el sabor, la ternera y la jugosidad, ha sido considerada como las características

más importantes de selección por parte de los consumidores (Nam., 2009).

Efecto del CaCl_2 sobre la textura

La maduración de las carnes ha sido utilizada por años como una forma de incrementar la ternera, se ha demostrado que el suministro de cantidades adicionales de calcio mejora sus características. La inyección mecánica *postmortem* de una disolución de CaCl_2 tiene efecto directo sobre la ternera (Landaverde, 2009). Alvarado y McKee, (2007) emplearon formulaciones de agua sa-

lada y fosfato logrando aumentar la ternura, jugosidad de la carne (Bjorkroth, 2005).

Efecto del cloruro de calcio sobre las bacterias

Pathania *et al.*, (2010) reportaron actividad antagonista de adobos sobre *Listeria monocytogenes* y un limitado crecimiento de *Salmonella* spp en adobos y productos marinados. Según Bjorkroth (2005), las salsas de adobo previenen el crecimiento de microorganismos gracias al bajo pH y alta concentración de sal (NaCl), sorbatos, benzoatos, y diversas especias. Perko-Makela *et al.*, (2000) reportaron reducciones de *Campylobacter jejuni* (2,4 log₁₀ UFC / ml después 24 h) en una emulsión de adobo, aceite vegetal y agua con especias, y NaCl.

Actividad antibacteriana del aceite de romero

A los aceites esenciales se les atribuye ciertas propiedades antibacterianas gracias a los compuestos fenólicos que están contenidos en ellos (Rota *et al.*, 2008). La presencia de grupos hidroxilo y su relativa posición en el anillo fenólico permiten una alta actividad antimicrobiana (Zinoviadou *et al.*, 2009). El carácter antimicrobiano de los aceites se debe a su capacidad lipófila y a su grupo funcional (Camo *et al.*, 2008; Zinoviadou *et al.*, 2009).

Los aceites esenciales y sus componentes son conocidos por ser activos contra una amplia variedad de microorganismos, incluyendo bacterias Gram-negativas y bacterias Gram-positivas. Zaouali *et al.*, (2010) muestra una variable actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de romero, frente a *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* la cual presentó mediana resistencia, *Klebsiella pneumoniae* denotó mayor sensibilidad al aceite esencial de romero con mayor proporción de borneol. Contra *Bacillus subtilis* y *Bacillus cereus*, los aceites mostraron una leve a moderada actividad antimicrobiana y frente a *Staphylococcus aureus* se observó una actividad moderada. Gachkar *et al.*, (2007) y Santoyo *et al.*, (2005) reportaron una elevada actividad antimicrobiana del aceite de romero frente a *E. coli*, *S. aureus* y *Listeria monocytogenes*. Burt, *et al.*, (2007) demostraron que aplicar carvacrol vaporizado en una concentración del 20% es capaz de inhibir el crecimiento de *S. enteritidis*, serotipo entérico.

En este estudio se propuso identificar el efecto de la concentración de CaCl₂ y el aceite de romero bajo condiciones de masaje, sobre la ternura y la actividad bacteriana en el corte de carne churrasco argentino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de la muestra

Los cortes de carne tipo churrasco argentino fue obtenido de la plaza de mercado de la ciudad de Pamplona (Colombia) con un peso de 250 g (72 horas post mortem) y fueron trasladados en cava refrigeradas a 4 +/- 0,5°C

hasta las instalaciones del Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICITAL) de la Universidad de Pamplona (N.S); lugar en donde llevó a cabo el presente trabajo. Se desconocen las condiciones *ante mortem* de los animales sacrificados.

Masajeado y marinado

Se realizó un diseño para determinar las condiciones óptimas de masajeo y marinado con cloruro de calcio (CaCl_2) a concentraciones de 0M, 0,18 M, 0,52M, y 0,72M, y 0%, 2%, 4% y 6% de aceite de romero por medio de masajeo.

El marinado con masajeo se llevó a cabo en una masajeadora TOMBLER JAVAR con capacidad de 50 kg. Las muestras se procesaron con las diferentes soluciones de CaCl_2 en un volumen de 250 mL a 18°C con una frecuencia de giro de 24 rpm, por un periodo de 10 min. Al finalizar el tiempo de masajeo se extrajeron las muestras y fueron empacadas al vacío en bolsas termo encogible con capacidad de 500 g, empleando un equipo henkovac 1500 con una presión de vacío de 95% y se almacenaron por un periodo de 48 horas. Se realizaron los tratamientos por triplicado.

Determinación de textura

Para estas mediciones se emplea el texturómetro al que se le inserta un dispositivo equipado con una cuchilla de Warner Bratzler. La textura se determinó registrando la fuerza

necesaria para realizar un corte empleando una navaja Warner Blatzler en un analizador de textura, Texture Analyser modelo TA-HDi (Texture Technologies Scarsdale/ Stable Micro Sistem, Surrey, Inglaterra), equipado con una celda de carga de 50 kg. Se utilizó una velocidad del cabezal de 10 cm por min. Las dimensiones de los trozos de churrasco marinado y masajeados utilizados en la determinación de la fuerza al corte fueron de 1,2 cm de ancho x 1,2 cm de alto x 10 cm de longitud.

Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos se analizaron mediante un análisis estadístico empleando el software estadístico SPSS (Statistical Package for the social Sciences) versión 17.0 para Windows (SPSS inc. Chicago, IL, USA); aplicando ANOVA 1 factor con un ($P < 0.05$) en busca de Diferencias Mínimas Significativas (DMS) para las variantes para la textura, con relación a la concentración de CaCl_2 . Los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis de la varianza (ANOVA un factor, utilizando la prueba LSD) a través del programa estadístico SPSS (Statistical Package for the social Sciences) versión 17.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de la concentración de CaCl_2 sobre la terneza

En la figura 1 se muestra los datos obtenidos a partir de las lecturas de terneza registradas de los ensayos de cortes de carne masajeadas a 10 minutos a diferentes concentraciones de CaCl_2 , donde se evidencia un aumento en la resistencia al corte en las muestras marinadas con respecto a la muestra sin solución de sal.

Los valores registrados no presentan diferencia mínimas significativas entre los dos grupos con un ($p \leq 0,05$).

Los tratamientos aplicados con solución de CaCl_2 presentan un aumento en la resistencia a la fuerza generada al corte, se observa que los valores mostrados a una concentración del 0,18 M son los más elevados debido a que la concentración de la solución marinadora es insuficiente para producir la terneza deseada,

en el tratamiento aplicado con CaCl_2 al 0,72 M se presenta una saturación intracelular con iones de calcio produciéndose la unión irreversible de actina y miosina, dando lugar a la instauración de una rigidez similar a la cadavérica.

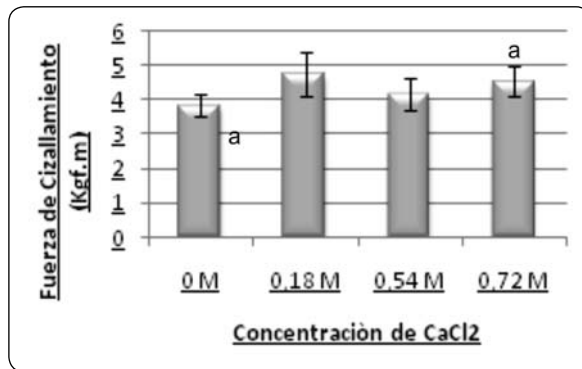


Figura 1. Variación de la terneza de las muestras de carne respecto a la concentración de CaCl_2
 n = 3. Media \pm Des Típica

El sistema de calpaína se compone de varias isoformas de la calpaína enzima proteolítica, y un inhibidor endógeno de las calpaínas, calpastatina. Las dos isoformas mejor caracterizados son μ -calpaína y m-calpaína. Estas isoformas requieren la presencia de calcio para ser activo y se nombran en referencia a la cantidad de calcio que cada uno requiere para la actividad. En general, μ -calpaína requiere entre 5 y 65 mM Ca^{2+} por medio de la máxima actividad, mientras que m-calpaína requiere entre 300 y 1000 mM Ca^{2+} para la mitad de la máxima actividad (Goll *et al*, 1992). Estas dos enzimas escinden las proteínas miofibrilares mismos que se degradan durante el envejecimiento postmortem (Huff-Lonergan, *et al*, 1996; Kendall *et al*, 1993).

Asimismo, los valores arrojados con el tratamiento a una concentración al 0,54 M muestran una disminución en la fuerza de cizallamiento, siendo esta la concentración media recomendada para mejorar la terneza

de la carne debido a que la cantidad de iones de calcio disponible intracelularmente son eficientes para la activación de las calpains. (Gonzalez *et al.*, 2004).

Efecto de la concentración de aceite de romero sobre la terneza

La figura 2 demuestra que no existen diferencias estadísticamente significativas con un ($p < 0,05$) entre las muestras de churrasco al ser tratadas con diferentes concentraciones de aceite de romero lo que expone que éste no ejerce ningún efecto sobre la terneza de la carne.

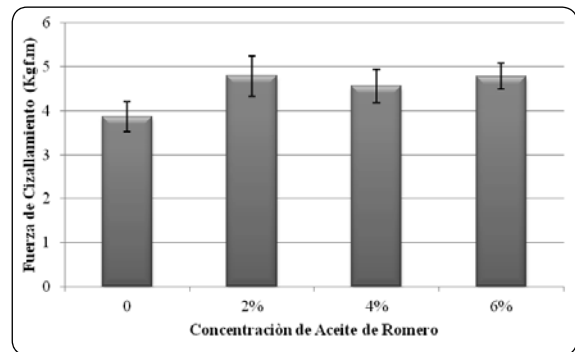


Figura 2. Variación de la terneza de las muestras de carne respecto a la concentración de aceite de romero
 n = 3. Media \pm Des Típica

De acuerdo a los resultados anteriores la terneza no está relacionada con la concentración de aceite de romero, por lo tanto la estimación de la concentración óptima del aceite de romero que se emplea no es relevante para evaluar esta característica.

Efecto de la concentración de CaCl_2 sobre la actividad bacteriana de *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Salmonella spp*, *E.C.S.R.*

La tabla 1 muestra los resultados obtenidos a partir del masajeo aplicado a cortes de carne tipo churrasco argentino durante 10

minutos y expuesto a distintas concentraciones de CaCl_2 , donde se evidencia el comportamiento de la actividad bacteriana para los microorganismos de importancia según la legislación colombiana NTC 1325.

Tabla 1
Resultados microbiológicos de cortes de carnes tipo churrasco argentino sometidos a diferentes concentraciones de CaCl_2

	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	E.C.S.R.	<i>Salmonella spp</i>
0 M	140 UFC/g	≤100	≤10	Ausencia
0,18 M	110 UFC/g	≤100	≤10	Ausencia
0,54 M	60 UFC/g	≤100	≤10	Ausencia
0,72 M	40 UFC/g	≤100	≤10	Ausencia
NTC 1325 limite	100-400	100-300	100-300	Ausencia

Los análisis practicados a las muestras para detectar los niveles o la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp* y Esporas de *Clostridium* Sulfito reductor no reportaron resultados, con lo que se muestra que ninguno de estos patógenos de encontraba en producto y que las medidas de prevención en los procesos de faenado y comercialización son eficientes respecto a este grupo, no obstante, se registró la presencia de *E. coli* en el producto y se puede apreciar que la adición de la sal tiende a limitar su desarrollo, ya que a mayor cantidad de CaCl_2 adicionada es menor su recuento. El conteo inicial de las UFC/g de *E.coli* se encontró dentro de los parámetros aceptados, luego de los tratamientos aplicados se evidencia una disminución en el número de colonias en los tratamientos con solución de CaCl_2 a 0,18 M y CaCl_2 a 0,72 M, manteniéndose dentro de los límites, se recomienda el uso de soluciones de CaCl_2 a 0,54 M o 0,72 M los cuales presentaron una reducción considerable.

A concentraciones suficientes, la sal inhibe el crecimiento microbiano como resultado del aumento en la presión osmótica del medio o del alimento y debido al descenso del A_w . El agua es expulsada de la célula como resultado de la acumulación de iones alrededor de las bacterias, la inducción de choque osmótico que puede retrasar o prevenir el crecimiento microbiano (Henney *et al.*, 2010).

Efecto de la concentración de aceite de romero sobre la actividad bacteriana de Staphylococcus aureus, E.coli, Salmonella spp, E.C.S.R.

La tabla 2 muestra los resultados obtenidos a partir del masajeo aplicado a cortes de carne tipo churrasco argentino durante 10 minutos y expuesto a diferentes concentraciones de aceite de romero, donde se evidencia el comportamiento de la actividad bacteriana para los microorganismos de importancia según la norma colombiana NTC 1325.

Tabla 2
Resultados microbiológicos de cortes de carne sometidos a diferentes concentraciones de aceite de romero

	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	E.C.S.R.	<i>Salmonella spp</i>
0%	140 UFC/g	≤100	≤10	Ausencia
2%	≤10 UFC/g	≤100	≤10	Ausencia
4%	≤10 UFC/g	≤100	≤10	Ausencia
6%	≤10 UFC/g	≤100	≤10	Ausencia
NTC 1325	100-400	100-300	100-300	Ausencia

No se registró la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp* y Esporas de *Clostridium* Sulfito reductor y se puede apreciar que la adición de aceite de romero tiene un efecto inhibitorio significativo sobre *E. coli* ya que, luego de la aplicación ninguna muestra registró crecimiento. El conteo inicial

de las UFC/g de *E.coli* se encontró dentro de los parámetros aceptados, luego de los tratamientos aplicados se evidencia una disminución significativa en cada una de las muestras expuestas a las distintas concentraciones de aceite de romero.

En la tabla 2, se evidencia una disminución de la población microbiana de *E.coli*, es importante resaltar la capacidad inhibitoria que tiene el aceite de romero gracias a sus componentes, entre ellos cabe resaltar alcanfor, cineol, bomeol, verbenona, D- linadol, terpenos, cariofileno, α - pineno y canfeno. Autores demostraron que el alcanfor y el borneol tienen efecto antibacteriano frente a cepas de *E.coli* y *Salmonella* spp. (C.S. de Heluani., 2003).

La actividad antimicrobiana de los aceites esenciales se basa en las característica de sus componentes, su hidrofobicidad, lo que les permite crear particiones en los lípidos de la membrana celular de las bacterias y las mitocondrias, alterando las estructuras y haciéndolas más permeables, provocando la fuga de iones y otros contenidos celulares, puede ocurrir lo que se denomina como alteración de la membrana citoplasmática, que cambia la fuerza motriz de protones, el flujo de electrones, el transporte activo y la coagulación de contenido de la célula. La disminución en el pH que se produce debido a esta disrupción de la membrana celular significa que el control de procesos celulares como la transcripción del ADN, la síntesis de proteínas y la actividad enzimática se pierde (Oussalah *et al.*, 2006). El mecanismo de acción de los aceites esenciales resulta

muy variado gracias al número de grupos de compuestos químicos presentes, es más probable que su actividad antibacteriana no es atribuible a un mecanismo específico (Carson *et al.*, 2002). Sin embargo Hay estudios sobre el efecto de los componentes principales del romero (1,8-cineol y α -Pineno) sobre la actividad microbiana. (Wong y Kitt, 2006). En general el aceite de romero posee fuertes propiedades antimicrobianas (Dawson *et al*, 2005; Pranoto *et al*, 2007; Suppakul *et al*, 2008) contra patógenos transmitido por los alimentos, contiene componentes fenólicos utilizados como conservantes de alimentos como el carvacrol contra bacterias (Periago *et al.*, 2004). Estos compuestos presentes en los aceites esenciales son hidrófobos y son propensos a disolverse en el dominio hidrofóbico de la membrana citoplasmática de las células bacterianas, entre las cadenas de acilo del lípido. Moléculas de hidrocarburos lipofílicos podrían acumularse en la bicapa lipídica y distorsionar los lípidos y la interacción de proteínas, como alternativa, la interacción directa de los lipofílicos compuestos con partes hidrofóbicas de la proteína es posible. Además de esto, los terpenos tienen la capacidad de alterar y penetrar la estructura lipídica de la pared celular de las bacterias, dando lugar a desnaturalización de las proteínas y la destrucción de la membrana celular que conduce a la fuga de citoplasma, lisis y finalmente la muerte celular. La disminución en el pH que se produce debido a la disrupción de la membrana celular significa que control de procesos celulares como la transcripción del ADN, la síntesis de proteínas y la actividad enzimática se pierde (Oussalah *et al.*, 2006).

CONCLUSIONES

Los valores de terneza del corte de carne tipo churrasco argentino no presento variaciones con la aplicación de soluciones de CaCl_2 y aceite de romero; la actividad bacteriana estuvo influenciada por las solu-

ciones de CaCl_2 y aceite de romero, evidenciándose el poder inhibitorio de este ultimo sobre las bacterias presentes en las muestras de carne.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarado, C., McKee, S.R., Marination to improve functional properties and safety of poultry meat. *Journal of Applied Poultry Research*. 2007.16, 113–120.
- Bjorkroth, J., Microbiological ecology of marinated meat products. *Meat Science*. 2005. 70, 477–480.
- Burt, S.A., Fledderman, M.J., Haagsman, H.P., van Knapen, F. and Veldhuizen, E.J.A. Inhibition of Salmonella enterica serotype Enteritidis on agar and raw chicken by carvacrol vapour. *International Journal of Food Microbiology*. 2007. 119, 346–350.
- Camo, J., J.A. Beltrán, and P. Roncalés. Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. *Meat Science*. 2008. 80:1086-1091.
- Carson, C. F., Mee, B. J., and Riley, T. V. Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2002. 46(6), 1914–1920.
- C.S. de Heluani, M.P. de Lampasona, M.I. Vega y C.A.N. Catalán. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Leaves and Roots of *Croton hieronymi* Griseb. *Molecular Medicinal Chemistry*. 2003. vol 1, 52- 52. ISSN 1666-888X
- Dawson, P.L., Harmon, L., Sothibandhu, A., Han, I.Y. Antimicrobial activity of nisin-adsorbed silica and carn starch powders. *Food Microbiology*. 2005. 22, 93–99.
- Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh, & S.A., Rasooli, I. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*. 2007. 102, 898–904.
- Gonzales. R, Mateo. J, Totosaus. A, Pérez. L. Efecto del masaje o marinado con cloruro de calcio en la textura de carne bovino. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. 2004. Vol 4, numero 004. pp 274-277.
- Goll, D. E., Thompson, V. F., Taylor, R. G., & Zalewska, T. (1992). Is calpain activity regulated by membranes and autolysis or by calcium and calpastatin. *Bioessays*, 14, 549–556.
- Henney, J. E., Taylor, C. L., & Boon, C. S. (Eds.). Strategies to reduce sodium intake in the United States. Washington, DC: *The National Academies Press*. 2010.
- Huff-Lonergan, E., Mitsuhashi, T., Parrish, F. C., & Robson, R. M. (1996). Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis and western blotting comparisons of purified myofibrils and whole muscle preparations for evaluating titin and nebulin in postmortem bovine muscle. *Journal of Animal Science*, 74, 779–785.
- Kendall, T. L., Koohmaraie, M., Arbona, J. R., Williams, S. E., & Young, L. L. (1993). Effect of pH and ionic strength on bovine m-calpain and calpastatin activity. *Journal of Animal Science*, 71, 96–104.
- Landaverde, C.A. Evaluación de uso de dos concentraciones de cloruro de calcio y dos tipos de empaque en la maduración de carne de res. [Tesis Maestría]. [Honduras] Carrera de Agroindustria Alimentaria. 2009.
- Nam, Y.J., Choi, Y.M., Lee, S.H., Choe, J.H., Jeong, D.W., Kim, Y.Y., Kim, B.C. Sensory evaluations of porcine *longissimus dorsi* muscle: Relationships with postmortem meat quality traits and muscle fiber characteristics. *Meat Science*. 2009. Vol 83, Issue 4, Pages 731–736
- Oussalah, M., Caillet, S., and Lacroix, M. Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory oils against cell membrane and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 2006. 69(5), 1046–1055.
- Pathania, A., McKee, S.R., Bilgili, S.F., Singh, M. Antimicrobial activity of commercial marinades against multiple strains of *Salmonella* spp. *International Journal of Food Microbiology* 139. 2010. 214–217

- Periago, P.M., Delgado, B., Fernández, P.S., Palop, A., Use of carvacrol and cymene to control growth and viability of *Listeria monocytogenes* cells and predictions of survivors using frequency distribution functions. *Journal of Food Protection* 2004. 67, 1408–1416.
- Perko-Makela, P., Koljonen, M., Miettinen, M., Hanninen, M.L., Survival of *C. jejuni* in marinated and non-marinated chicken products. *Journal of Food Safety*. 2000. 20, 209–216
- Pranoto, Y., Rakshit, S.K., Salokhe, V.M., Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *LWT Food Sci and Technology*. 2007. 38, 859–865.
- Rota, M.C., A. Herrera, R.M. Martínez, J.A. Sotomayor, and M.J. Jordán. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*. 2008. 19:681-687.
- Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F.J, y Reglero, G. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection*. 2005. 68 (4), 790–795.
- Suppakul, P., Sonneveld, K., Bigger, S.W., Miltz, J., Efficacy of polyethylene-based antimicrobial films containing principal constituents of basil. *LWT Food Sci and Technology*. 2008. 41, 779–788.
- Wong, P.Y.Y., Kitt, D.D., Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. *Food Chemistry*. 2006. 97, 505–515.
- Zaouali, Y., Bouzaine, T. & Boussaid, M. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology* 2010.48, 3144–3152
- Zinoviadou, K.G., K.P. Koutsoumanis, and C.G. Biliaderis. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. *Meat Science*. 2009. 82:338-345.