

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Nutrição
Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos



Dissertação

**Atividade Antimicrobiana de Óleos Essenciais de *Origanum vulgare* (orégano)
e *Ocimum basilicum* (manjericão) e sua Aplicação em Massa para Embutido
Cárneo**

Patrícia Gomes Vivian

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

V858a Vivian, Patrícia Gomes

Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *Origanum Vulgare* (orégano) e *Ocimum Basilicum* (manjericão) e sua aplicação em massa para embutido cárneo / Patrícia Gomes Vivian ; Cláudio Dias Timm, orientador ; Eliezer Ávila Gandra, coorientador. — Pelotas, 2017.

51 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Segurança alimentar. 2. Patógenos. 3. Avaliação sensorial. 4. *Salmonella*. I. Timm, Cláudio Dias, orient. II. Gandra, Eliezer Ávila, coorient. III. Título.

CDD : 641.1

Patrícia Gomes Vivian

**Atividade Antimicrobiana de Óleos Essenciais de *Origanum vulgare* (orégano)
e *Ocimum basilicum* (manjericão) e sua Aplicação em Massa para Embutido
Cárneo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Cláudio Dias Timm
Co-orientador: Prof. Dr. Eliezer Ávila Gandra

Pelotas, 2017

Patrícia Gomes Vivian

Atividade Antimicrobiana de Óleos Essenciais de *Origanum vulgare* (orégano) e *Ocimum basilicum* (manjericão) e sua Aplicação em Massa para Embutido Cárneo

Dissertação aprovada como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Nutrição e Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 20/07/2017

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Cláudio Dias Timm (orientador)
Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Eliezer Ávila Gandra
Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dr^a. Caroline Bastos
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dr^a. Fernanda de Rezende Pinto
Doutora em Medicina Veterinária Preventiva pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Agradecimentos

À Universidade Federal de Pelotas em especial ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos pela oportunidade de realizar o curso de Pós-Graduação.

A minha mãe Rita de Cassia Gomes Vivian, pela minha existência, que ofereceu incentivo e apoio para que eu concluisse essa etapa.

Aos meus irmãos, sobrinha e cunhado, pelo incentivo e por acreditarem sempre no meu potencial.

Ao meu namorado, pelo carinho e amor, sendo um grande incentivador dos meus sonhos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Cláudio Dias Timm, pelos ensinamentos, incentivo, amizade e paciência.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Eliezer Ávila Gandra pela amizade, ajuda e atenção.

Ao Prof. Dr. Rogério Freitag por disponibilizar o uso do Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais e à doutoranda Ivandra pela ajuda durante o processo de extração.

À médica veterinária e mestrandra Greyce Melo, pela ajuda, amizade e apoio.

À amiga e doutoranda Júlia Barenzelli, pela ajuda e apoio.

À amiga Marina Ferreira, pela ajuda e apoio.

À estagiaria Rebeca, pela ajuda, disponibilidade, paciência em aprender com quem muitas vezes, também estava aprendendo.

A todos os mestrandos, doutorandos, estagiários e funcionários do laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, esclarecendo dúvidas e oferecendo ajuda sempre que solicitados.

Obrigada a todos!

Resumo

VIVIAN, Patrícia Gomes. **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *Origanum vulgare* (orégano) e *Ocimum basilicum* (manjericão) e sua aplicação em massa para embutido cárneo.** 2017. 51f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A busca por aditivos naturais em alimentos tem aumentado recentemente devido à reação negativa dos consumidores em relação aos aditivos químicos adicionados intencionalmente em produtos industrializados com a finalidade de aumentar a vida útil dos mesmos. O interesse sobre óleos essenciais e sua aplicação em alimentos tem crescido cada vez mais e isto se dá devido ao seu elevado potencial antimicrobiano, tornando-se uma nova perspectiva de uso. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi verificar a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *Origanum vulgare* (orégano) e *Ocimum basilicum* (manjericão), e sua aplicação em embutido cárneo para controle de microrganismos indesejáveis. O efeito antimicrobiano foi analisado pelo teste de disco-difusão e concentração bactericida mínima (CBM) frente a *Salmonella enterica* sorotipos Typhimurium e Enteritidis, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. Realizou-se avaliação microbiológica em massa para embutido cárneo experimentalmente contaminada com *Salmonella enterica* adicionada dos óleos essenciais nas concentrações 0,5%, 1,0% e 1,5%, após 0, 24, 48 e 72 horas de estocagem a 4°C. Nos testes de disco-difusão e CBM, o óleo essencial mais eficaz foi o de *O. vulgare*, seguido da mistura dos óleos essenciais de *O. vulgare* e *O. basilicum*. O óleo essencial de *O. vulgare* e a mistura dos óleos essenciais de *O. vulgare* e *O. basilicum* na concentração 0,5% e 1,0% não foram capazes de eliminar *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium* da massa experimentalmente contaminada. Entretanto, na concentração de 1,5%, *S. Enteritidis* foi eliminada por ambos os tratamentos e *S. Typhimurium* somente pelo óleo essencial de *O. vulgare*. Quando avaliado sensorialmente, o embutido cárneo na concentração de 1,5% não obteve boa aceitação pelos consumidores. Apesar de ter apresentado efeito preventivo da contaminação da massa para embutido por *Salmonella*, o uso dos óleos essenciais estudados resultaram em alterações de sabor inaceitáveis pelos consumidores.

Palavras chave: segurança alimentar; patógenos; avaliação sensorial; *Salmonella*

Abstract

VIVIAN, Patrícia Gomes. **Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Origanum vulgare* (oregano) and *Ocimum basilicum* (basil) and its Application in meat sausage.** 2017. 51f. Dissertation (Master Degree) - Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The search for natural additives in food has recently increased due to the negative reaction of consumers to the chemical additives intentionally added in industrialized products in order to increase their useful life. The interest in essential oils and their application in food has been increasing and this is due to its high antimicrobial potential, becoming a new perspective of use. In this context, the objective of this study was to verify the antimicrobial activity of essential oils of *Origanum vulgare* (Oregano) and *Ocimum basilicum* (basilicum), and its application in meat sausage to control undesirable microorganisms. The antimicrobial effect was analyzed by the disc-diffusion test and minimum bactericidal concentration (MBC) against *Salmonella enterica* serotypes Typhimurium and Enteritidis, *Escherichia coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. A microbiological mass evaluation was carried out for meat sausage, experimentally contaminated with *Salmonella enterica*, added to the essential oils at 0.5%, 1.0% and 1.5% concentrations after 0, 24, 48 and 72 hours of storage at 4°C. In the disk-diffusion and CBM tests, the most effective essential oil was *O. vulgare*, followed by mixing the essential oils of *O. vulgare* and *O. basilicum*. *O. vulgare* essential oil and the mixture of the essential oils of *O. vulgare* and *O. basilicum* at the concentration of 0.5% and 1.0% were not able to eliminate *S. Enteritidis* and *S. Typhimurium* from the experimentally contaminated mass. However, at the concentration of 1.5%, *S. Enteritidis* was eliminated by both treatments and *S. Typhimurium* only by *O. vulgare* essential oil. When evaluated sensorially, the meat inlay in the concentration of 1.5% did not obtain good acceptance by the consumers. Although it had a preventive effect on the contamination of the salmonella-based pasta, the use of the essential oils studied resulted in unacceptable taste changes.

Keywords: food safety; pathogens; sensory evaluation; *Salmonella*

Lista de figuras

Figura 1 - Teste de intenção de compra para massa embutido cárneo acrescido de óleos essenciais	33
Figura 2 - Teste da aplicação da ficha hedônica para massa embutido cárneo acrescido de óleos essenciais.....	34

Lista de tabelas

Tabela 1 - Tamanho dos halos (mm) de atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, detectada no teste de disco-difusão	28
Tabela 2 - Concentração bactericida mínima (μ L/mL) dos óleos essenciais de <i>O. vulgare</i> , de <i>O. basilicum</i> e da mistura dos dois óleos.....	30
Tabela 3 - Recuperação de <i>Salmonella Enteritidis</i> e <i>Salmonella Typhimurium</i> da massa para embutido cárneo experimentalmente contaminada adicionada de óleo essencial de <i>O. vulgare</i> e da mistura dos óleos de <i>O. vulgare</i> e <i>O. basilicum</i>	31

Lista de abreviaturas e siglas

°C	Graus Celsius
µl	Microlitro
CBM	Concentração Bactericida Mínima
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
g	Gramas
h	Hora
mg	Miligramas
mL	Mililitro
mm	Milímetro
Tween 80	Mono-oleato de Polioxietileno Sorbitano
UFC	Unidade Formador de Colônia
CMI	Concentração Inibitoria Minima
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas

Sumário

1	Introdução	12
2	Revisão bibliográfica	15
2.1	Introdução	15
2.2	Óleos essenciais	17
2.3	Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais	19
2.4	Compostos ativos.....	19
2.5	Métodos de avaliação da atividade antimicrobiana.....	20
2.6	Análise sensorial de alimentos	21
3	Material e métodos.....	23
3.1	Obtenção dos óleos essenciais de <i>O. vulgare</i> e <i>O. basilicum</i>	23
3.2	Avaliação da atividade antimicrobiana	23
3.3	Avaliação da atividade antimicrobiana em massa para embutido cárneo	24
3.3.1	Preparo da massa para embutido cárneo	24
3.3.2	Contaminação experimental.....	25
3.3.3	Análises microbiológicas	25
3.4	Análise sensorial	25
3.5	Análise estatística	26
3.6	Comitê de ética	26
4	Resultados e discussão	27
4.1	Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais	27
4.1.1	Teste de disco-difusão	27
4.1.2	Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)	28
4.2	Aplicações do óleo essencial de <i>O. vulgare</i> e da mistura de <i>O. vulgare</i> e <i>O. basilicum</i> na massa do embutido cárneo	29
4.3	Análise sensorial	31
5	Considerações finais	34
	Referências	36
	Anexos	43
	Anexo A - Termo de consentimento livre e esclarecido para análise sensorial.....	44
	Anexo B - Ficha de intenção de compra	48

Anexo C - Ficha hedônica	49
Anexo D - Ficha de pesquisa de mercado	50

1 Introdução

O número de consumidores que exigem alimentos com menor adição de conservantes químicos vem crescendo nos últimos anos e a indústria de alimentos tem interesse em agentes antimicrobianos naturais que possam prolongar a vida de prateleira dos produtos e combater microrganismos patogênicos (CALO et al., 2015).

Os hábitos alimentares vêm sofrendo mudanças em diversos países, acarretando o desenvolvimento de novas técnicas de produção, preparação e distribuição de alimentos. Sendo assim, o controle de higiene e adição de aditivos naturais nos produtos é imprescindível para evitar consequências prejudiciais provocadas por falta de higienização e uso abusivo de conservantes químicos (CODÉX ALIMENTARIUS, 2006). O consumo excessivo destes conservantes químicos podem provocar problemas de saúde, tais como alergia, hiperatividade e câncer (CALO et al., 2015)

Neste contexto, a utilização de óleos essenciais como uma alternativa para substituição aos aditivos químicos que são comumente utilizados em produtos cárneos tem ganhado mais atenção. A atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos possui muitas aplicações, incluindo conservação de alimentos crus e processados (MARTUCCI et al., 2015).

Origanum vulgare (orégano) é um tempero utilizado na culinária para conferir sabor e aroma aos alimentos (KOKKINI e VOKOU, 1989), mas também possui características antimicrobianas que aumentam a vida de prateleira dos produtos (ANSESIO et al., 2015).

Ocimum basilicum (manjericão) tem sido utilizado na medicina por apresentar propriedades benéficas para a saúde, principalmente no tratamento de infecções no trato respiratório (AL ABBASY et al., 2015).

Tanto o *O. vulgare* quanto o *O. basilicum* apresentam na sua composição timol, eugenol e carvacrol, que são os principais constituintes responsáveis pela atividade antimicrobiana destes condimentos (SANTURIO, 2015).

A carne é um produto altamente perecível e isto se dá pela sua composição química e à atividade de água (ORDÓÑEZ et al. 2005). A fabricação de embutidos cárneos diminui a perecibilidade da carne.

Para aumentar a vida de prateleira dos embutidos cárneos, a aplicação de sais de cura, como nitrito e nitrato de sódio e de potássio, tem sido muito utilizada pela indústria alimentícia. Tais aditivos conservam o produto, inibindo o crescimento de agentes patogênicos. A adição de nitritos e nitratos no produto cárneo tem como principal objetivo inibir o crescimento de algumas espécies de microrganismos causadores de toxinfecções e intoxicações, como, por exemplo, *Clostridium botulinum*, *Salmonella* spp. e *Staphylococcus* spp. (SILVEIRA, 2012).

Entretanto, ao aquecer a carne, os nitritos presentes no produto cru se transformam, reagindo com aminas secundárias e terciárias, podendo levar ao aparecimento de nitrosaminas (ORDÓÑEZ et al. 2005). A Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) alerta que as nitrosaminas podem ser consideradas agentes cancerígenos para humanos (DUARTE, 2010). As nitrosaminas são as principais responsáveis pelo câncer de estômago, que tem alta prevalência em populações que consomem regularmente embutidos cárneos (CARNICER, 2007). A legislação brasileira vigente prevê limites máximos de 0,015 g/100 g e 0,03 g/100 g, respectivamente, para nitrito e nitrato de sódio em carnes e produtos cárneos (BRASIL, 2003).

De acordo com estudos realizados por Ernandes (2007), Menezes et al. (2009), Caravic et al. (2010), Alves (2010), Pozzo et al. (2011), Probst (2012), Andrade (2013) Al Abbasy et al. (2015), Ansesio (2015) e Araujo e Longo (2016) os óleos essenciais de condimentos são eficientes antimicrobianos, tendo potencial para serem usados como aditivos naturais em produtos alimentícios (SOUZA et al., 2003; ALEIXO, 2013). Entretanto, esses estudos apresentam resultados referentes somente à atividade antimicrobiana dos condimentos e não verificam a aceitação dos consumidores quando adicionados em alimentos. A concentração de aditivos químicos em embutidos cárneos poderia ser reduzida pela utilização de óleos

essenciais de condimentos, principalmente óleos essenciais de *O. vulgare*, *O. basilicum*, que são temperos comumente utilizados no preparo de carnes.

Considerando a hipótese de que os óleos essenciais de *O. vulgare* e *O. basilicum* apresentam na sua composição compostos que possuem ação antimicrobiana, sendo eficientes aditivos naturais que, quando adicionados em embutidos cárneos, aumentam a vida de prateleira do mesmo sem o uso abusivo de conservantes químicos, desenvolveu-se esse estudo, a fim de avaliar a ação antimicrobiana de óleos essenciais de *O. vulgare* e *O. basilicum* em massa para embutido cárneo, contemplando ainda os seguintes objetivos específicos:

- a) Avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais frente aos microrganismos *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sorotipos Typhimurium e Enteritidis;
- b) Avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais em massa para embutido cárneo;
- c) Testar a aceitabilidade para o consumo de embutido cárneo com adição dos óleos essenciais.

2 Revisão bibliográfica

2.1 Introdução

Durante as últimas décadas, as doenças relacionadas à ingestão de alimentos contaminados com agentes microbianos vêm se tornando a principal preocupação sobre segurança dos alimentos entre as agências reguladoras e os consumidores, uma vez que a presença de microrganismos patogênicos no alimento pode levar a casos e surtos de (DTA) (GODINHO, 2010).

Os alimentos que não são preparados de forma higiênica ou não tem conservação e armazenamento adequados, podem ser os principais responsáveis pelo desenvolvimento de microrganismos e suas toxinas. Os microrganismos mais comumente envolvidos em surtos de DTA são *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, dentre outros, sendo os alimentos mais envolvidos nestes surtos os provenientes de animais, produtos derivados e alimentos altamente manipulados (RIBEIRO, 2011).

Com o aumento de aditivos químicos adicionados intencionalmente nos alimentos com o intuito de aumentar a vida útil dos mesmos, tem-se observado um crescente interesse por parte da população e da indústria em diminuir os efeitos negativos de substâncias oxidantes e deteriorantes, tanto para a indústria alimentícia e a agricultura, como para a saúde humana, através do uso de compostos antimicrobianos alternativos presentes em plantas (ANDRADE et al., 2013). O número de consumidores que exigem alimentos com menor adição de conservantes químicos vem crescendo constantemente e a indústria tem interesse em agentes antimicrobianos naturais que possam prolongar a vida de prateleira e combater patógenos (CALO et al., 2015).

Os condimentos são comumente utilizados para aumentar e intensificar o sabor e aroma dos alimentos, apresentando também finalidade de conservação devido a propriedades antimicrobianas (MORAES et al., 2009).

Os óleos essenciais são compostos aromáticos voláteis, naturais, caracterizados por forte odor, sendo encontrados em diversas partes dos vegetais, como folhas e talos (BAJPAI et al., 2012). Desempenham importante papel na natureza, protegendo as plantas através de ações antifúngicas, antivirais, antibacterianas, inseticidas e contra herbívoros. Também ajudam alguns insetos a favorecerem a dispersão do pólen e sementes e repelem outros artrópodes indesejáveis (BAKKALI et al., 2008).

Atualmente, a utilização de óleos essenciais tem sido adotada pela indústria alimentícia, que os utilizam principalmente como aromatizantes em produtos. A utilização de algumas destas substâncias também se deve a propriedades antimicrobianas, visando ao controle de microrganismos patogênicos e deteriorantes (BAJPAI et al., 2012).

Os óleos essenciais são constituídos por substâncias complexas, incluindo aldeídos, cetonas, fenóis, ésteres, ácidos orgânicos e hidrocarbonetos terpênicos (SIMÕES, 2010).

O interesse maior nos óleos essenciais pela indústria de alimentos ocorre devido à sua eficiência sobre inibição e redução do número de patógenos importantes de origem alimentar, como por exemplo, *S. Enteritidis*, *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, e à diminuição da adição de aditivos químicos nos produtos, tais como nitrito, nitrato e sais de cura em carnes (BURT, 2004).

Assim, esta revisão bibliográfica tem como objetivo reunir as informações mais recentes disponíveis sobre óleos essenciais obtidos de plantas, com foco nos aspectos antimicrobianos e composição química, adotando como critério a pesquisa documental a partir de artigos e livros publicados em conceituadas revistas nacionais e internacionais.

2.2 Óleos essenciais

Alguns vegetais são capazes de produzir, transformar e acumular substâncias denominadas metabólitos secundários que são originadas por um conjunto de reações químicas conhecidas como metabolismo secundário. Os óleos essenciais, também conhecidos como óleos voláteis ou etéreos, são oriundos do metabolismo secundário de plantas aromáticas (SIMÕES, 2010). Esses fenômenos incluem processos como defesa contra herbívoros e patógenos, tolerância a temperaturas extremas, atração de polinizadores e adaptação à deficiência de nutrientes e minerais do solo (PROBIST, 2012). Compostos como timol, carvacrol, eugenol e linalol que estão presentes principalmente em *O. vulgare* e *O. basilicum* são compostos resultantes do metabolismo secundário destas plantas (MAIA, 2008; PROBIST, 2012; SILVEIRA, 2012).

A International Standard Organization define como óleos essenciais os produtos obtidos de partes de plantas através da expressão dos pericarpos ou por arraste de vapor d'água, sendo consideradas misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas à temperatura ambiente. Podem estar presentes em diferentes partes da planta, como flores, frutos, cascas, rizomas, folhas e sementes. São produzidos por diversas estruturas especializadas, como glândulas, células parenquimáticas diferenciadas, entre outros, dependendo da família em que se encontra a espécie em questão (MATTOS et al., 2007).

A composição química dos óleos essenciais pode ser modificada conforme a parte da planta, o horário do dia, o ambiente, grau de desenvolvimento, podendo também ser determinada geneticamente, variando de acordo com a origem botânica, fatores ambientais e procedimentos de cultivo (MAIA, 2008).

Como mecanismo de defesa, a maioria dos óleos essenciais exerce efeito antimicrobiano na estrutura da parede celular bacteriana, desnaturando e coagulando a proteína. Eles alteram a permeabilidade da membrana citoplasmática, causando assim a interrupção dos processos vitais da célula, como translocação de proteínas, transporte de elétrons, fosforilação, entre outras reações que vão depender das enzimas, resultando na perda do controle quimiosmótico da célula afetada e levando à morte bacteriana (DORMAN e DEANS, 2000).

Os microrganismos patogênicos podem representar riscos à saúde, afetando tanto homens como animais. Estes podem chegar até o alimento por inúmeras vias, especialmente quando há condições de higiene precárias, durante o seu processamento, armazenamento, distribuição e manuseio. Os microrganismos causadores de deterioração resultam em alterações de cor, sabor, odor, textura e aspecto dos alimentos ocorrendo assim à deterioração como consequência (FRANCO e LANDGRAF, 2003).

Estudos realizados por Al Abbasy et al. (2015), Bajpai et al. (2012), Bakkali et al. (2008), Calo et al. (2015), Fonseca (2012), Niu et al. (2013), Santos (2011) e Pitaro et al. (2012), permitem concluir que vários óleos essenciais de condimentos são constituídos de substâncias que possuem efeito antimicrobiano. Sendo assim, os óleos essenciais têm potencial para serem utilizados como conservantes naturais em alimentos.

Devido à sua composição benéfica para conservação de alimentos, a indústria alimentícia tem demonstrado interesse em fazer uso dos óleos essenciais para aumentar a vida de prateleira de seus produtos, diminuindo assim a adição de aditivos químicos nos mesmos (BIZZO et al., 2009), porém seu uso deve ser pautado a níveis tolerados pelos consumidores, sendo necessários ainda mais estudos sobre a aplicação de óleos essenciais de condimentos em alimentos e a sua aceitação pelo consumidor.

2.2.1 Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais pode ser atribuída a vários fatores, dentre eles à origem da planta, época de colheita, técnica aplicada, tipo de microrganismo e a cepa utilizada no teste, preparo dos extratos e concentração de óleo essencial testada (FENNEL et al., 2004). Esta ação é devida ao dano causado à integridade da membrana celular pelos componentes lipofílicos do óleo essencial, o que acaba afetando a manutenção do pH celular e o equilíbrio de íons inorgânicos (MAIA, 2008).

A atividade antimicrobiana do óleo essencial de *O. vulgare* frente a bactérias, como *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Enteritidis* e *E. coli* foi relatada por Ernandes

(2007), Sivropoulou (2008), Alves (2010), Pozzo et al. (2011) Pesavento et al. (2015), Martucci (2015), Souza (2015) e Barbosa et al. (2016). Os autores concluíram que o óleo essencial de *O. vulgare* reduz as contagens de microrganismos patogênicos, sendo eficiente antimicrobiano.

Pozzo et al. (2011), Pesavento et al. (2015) e Barbosa et al. (2016) avaliaram o efeito antimicrobiano do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e concluíram que esse óleo isoladamente e em combinações com outros óleos essenciais reduz as contagens de células viáveis de bactérias patogênicas em alimentos.

Alves (2010), Pozzo et al. (2011) e Pesavento et al. (2015) relataram que o óleo essencial de *T. vulgaris* (tomilho) também apresenta ação antimicrobiana isoladamente e em combinações frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas. Os autores também concluíram que a utilização do óleo essencial de *T. vulgaris* pode ser uma alternativa para a substituição dos sais de cura comumente por utilizados em embutidos cárneos.

Santurio (2015) ao realizar um estudo sobre o uso de óleos essenciais para o controle de bactérias patogênicas em alimentos, concluiu que o uso de óleos essenciais adicionados em produtos cárneos podem aumentar a vida útil e diminuir a contaminação de patógenos.

SILVEIRA (2012) realizou um estudo com óleo essencial de *O. basilicum* e verificou que o mesmo possui ação antimicrobiana frente a bactérias, como *Yersinia enterocolitica*, *Proteus vulgaris* e *E. coli*.

2.2.2 Compostos ativos

De acordo com Pinto (2015), os óleos essenciais de plantas possuem potencial ação antimicrobiana, frente a bactérias, leveduras e fungos filamentosos.

O efeito antimicrobiano do óleo essencial de *O. vulgare* frente a bactérias patogênicas em alimentos foi avaliado por Ernandes (2007), Sivropoulou (2008), Alves (2010), Pozzo et al. (2011), Pesavento et al. (2015), Martucci (2015), Souza (2015) e Barbosa et al. (2016). De acordo com os autores, a atividade antimicrobiana de *O. vulgare* está relacionada com as frações majoritárias de compostos como timol, carvacrol e eugenol.

Outra abordagem referente ao mecanismo de ação antimicrobiana é relatada por Alves (2010), Pozzo et al. (2011), Silveira (2012) e Al abbasy et al. (2015), que avaliaram a atividade antibacteriana do óleo essencial de *O. basilicum*. A atividade antibacteriana foi testada frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas. O constituinte mais abundante foi Linalol, 1,8-cineol e eugenol que são citados como substâncias responsáveis pela ação antibacteriana do óleo essencial de *O. basilicum*.

Estudos realizados por Pozzo et al. (2011) e Pesavento et al. (2015) avaliaram a ação antimicrobiana dos óleos essenciais de *O. vulgare*, *R. officinalis* e *T. vulgaris*. De acordo com os autores, esses óleos apresentaram ação antimicrobiana frente a *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *E. coli* e *S. aureus* em alimentos, os principais compostos responsáveis por esta ação antimicrobiana é o timol, cinamaldeido e carvacrol. Já, segundo Sivropoulou (2008), o componente com fração majoritária responsável pela eficácia antimicrobiana dos óleos essenciais de *O. vulgare* é carvacrol, que possui ação antimicrobiana sobre bactérias patogênicas, como *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. Typhimurium* e *S. aureus*.

A descoberta dos antimicrobianos naturais contidos em óleos essenciais e suas possíveis aplicações práticas em conservação de alimentos fizeram que pesquisas relacionadas a este assunto se aprofundassem ainda mais, tornando o “sistema antimicrobiano natural” um novo método de conservação de alimentos (SOUZA, 2006).

2.3 Métodos de avaliação da atividade antimicrobiana

Existem diversos métodos para avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos de vegetais, sendo os mais conhecidos o método de disco-difusão, métodos de microdiluição e de macrodiluição (FENNEL et al., 2004).

O método de disco-difusão é um dos testes de suscetibilidade mais simples e mais utilizado. O ensaio é realizado com discos de papel-filtro, que após a semeadura do inóculo bacteriano no ágar, são impregnados com antimicrobianos em concentrações fixas, e adicionado sobre a placa. Os resultados são determinados através das zonas de inibição de crescimento em torno dos discos. O

diâmetro da zona está relacionado com a suscetibilidade do isolado e com a taxa de difusão do antimicrobiano no ágar (RELLER et al., 2009).

O agente antimicrobiano é definido como sendo um produto natural, químico ou sintético que inibe ou mata o crescimento de microrganismos. A atividade antimicrobiana de um agente é determinada pela menor quantidade desse agente necessária para inibir o crescimento de um microrganismo-teste, esta quantidade é denominada concentração mínima inibitória (CIM) (MADIGAN et al. 2003; FENNEL et al. 2004; PINTO et al. 2015). A determinação da CIM é realizada de duas formas, tais como, macrodiluição, que consiste na utilização de tubos de ensaio, com volume de meio de cultura que varia de 1 a 10 mL, ou microdiluição, que é um método prático, rápido e barato, em que se utiliza microplacas de 96 poços com volumes entre 0,1 e 0,2 mL (PINTO et al., 2015). Ambas consistem em preparar diluições sucessivas do antimicrobiano a ser testado e verificar a menor concentração do antimicrobiano que inibiu o crescimento do microrganismo (CABRAL et al., 2009).

Após a determinação da (CIM) pode ser realizada a (CBM), que é considerada como a menor concentração na qual não há crescimento de colônias na superfície do meio de cultura, ou seja, a menor concentração capaz de causar a morte do microrganismo (CALO et al., 2015).

2.4 Análise sensorial de alimentos

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) define análise sensorial como a disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e dos materiais da forma que são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gustação, audição e tato (ABNT, 1993).

É através da análise sensorial que é feita a seleção e caracterização de matérias-primas, melhoria de uma formulação, avaliação da correlação de análises químicas com as sensações dos sentidos humanos e desenvolvimento de novos produtos alimentícios (SANTURIO, 2015).

A análise sensorial de um determinado produto é realizada por uma equipe que avalia suas características sensoriais. Para alcançar o objetivo específico de cada análise, são elaborados métodos de avaliação, visando à obtenção de

respostas mais adequadas ao perfil do produto. Esses métodos apresentam características que se moldam com o objetivo da análise. O resultado, que deve ser expresso de forma específica conforme o teste aplicado é estudado estatisticamente, concluindo assim a viabilidade do produto (TEIXEIRA, 2009).

Santurio (2015) avaliou a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *T. vulgaris*, *Cinnamomum zeylanicum* (canela) e *O. vulgare* frente a 20 espécies de *E. coli*, *in vitro*, adicionados em massa de linguiça toscana. A análise sensorial demonstrou que a linguiça Toscana adicionada dos óleos essenciais de *C. zeylanicum* e de *O. vulgare* nas concentrações de 200 µg/mL e 400 µg/mL, respectivamente, foi considerada aceitável pelos consumidores.

Em um estudo realizado por Rattanachaikunsopon e Phumkachorn (2010), que analisaram o efeito antimicrobiano do óleo essencial de *O. basilicum* contra *S. Enteritidis* e verificaram sensorialmente sua aceitação quando adicionado em presunto cru, os autores relataram que a adição de 0,01% do óleo essencial de *O. basilicum* foi aceitável pelos consumidores.

3 Material e métodos

3.1 Obtenção dos óleos essenciais de *O. vulgare* e *O. basilicum*

As folhas secas de *O. vulgare* e *O. basilicum* foram adquiridas da indústria Luar Sul Industria e Comércio, de Santa Cruz do Sul, Brasil.

Os óleos essenciais foram extraídos de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2010), por meio do processo de hidrodestilação por arraste a vapor com o auxílio do equipamento Clevenger durante 3 h. Após a extração, os óleos essenciais foram armazenados em frascos âmbar e mantidos a temperatura de -18°C.

As extrações foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais.

3.2 Avaliação da atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais foi testada frente aos seguintes microrganismos: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipos *Typhimurium* (ATCC 13311) e *Enteritidis* (ATCC 13076), *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43895), *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458) e *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644). Culturas *overnight* a 37°C em Caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI, Acumedia, Lansing, Michigan, USA).

Para a avaliação do efeito antimicrobiano foi utilizado o método de disco-difusão, de acordo com Caravic-Stanko et al. (2009). Também foi determinada a CBM, conforme preconizado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012), com pequenas modificações.

No método de disco-difusão, 0,1 mL de cultura em BHI de cada isolado com aproximadamente 10^7 UFC/mL foi semeado na superfície de ágar Mueller-Hinton (Acumedia) em placas de Petri com 90 mm de diâmetro. Discos de papel filtro estéreis impregnados com os óleos essenciais de *O. vulgare*, *O. basilicum* e a mistura em partes iguais de *O. vulgare* e *O. basilicum* (5 μ L por disco com 6 mm de diâmetro) foram depositados sobre o meio inoculado, que foi incubado a 37°C por 24 h. O diâmetro da zona de inibição, incluindo o diâmetro do disco, foi medido em milímetros.

A determinação da CBM foi realizada utilizando microplacas com 96 poços. Em cada poço, foram dispensados 50 μ L de BHI com 1% de Tween 80, utilizado para diminuir a tensão superficial no contato do óleo (apolar) com o meio de cultura (polar). No primeiro poço, foram dispensados 50 μ L do óleo essencial em teste. Retirando-se 50 μ L do poço de maior concentração, foram feitas oito diluições seriadas nos poços consecutivos até a concentração final, após a adição da cultura bacteriana, de 1,95 μ L/mL. No final, foram adicionados 50 μ L da cultura bacteriana com aproximadamente $5,0 \times 10^3$ células bacterianas em cada um dos poços. Poços sem adição do óleo e sem adição do inóculo foram utilizados para controles de multiplicação e de esterilidade, respectivamente. As placas foram incubadas a 36°C durante 48 h. Após a incubação, foram retiradas alíquotas de 5 μ L de cada uma das cavidades e repicadas em placas de ágar padrão para contagem (PCA) foram incubadas a temperatura de 36°C por 48h. A ausência de crescimento bacteriano no meio de cultivo foi indício de que o óleo essencial testado apresentou atividade bactericida. A CBM foi considerada como a menor concentração de óleo na qual não houve crescimento de colônias na superfície do meio de cultura.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3.3 Avaliação da atividade antimicrobiana em massa para embutido cárneo

3.3.1 Preparo da massa para embutido cárneo

Para o preparo da massa cárnea para o embutido, foram utilizadas partes iguais de carne de coxão bovino e de copa-lombo suíno adquirida no comércio local, a qual foi moída em moedor manual previamente limpo e sanitizado, adicionada de 0,5% de cloreto de sódio e homogeneizada. Alíquotas de 25 g foram adicionadas dos óleos (*O. vulgare* e mistura em quantidades iguais de *O. vulgare* e *O. basilicum*) nas concentrações 0,5%, 1,0% e 1,5%. Como controles, alíquotas sem adição de óleo também foram analisadas.

3.3.2 Contaminação experimental

A massa dos embutidos foi experimentalmente contaminada com *Salmonella* sorotipos Typhimurium (ATCC 13311) e Enteritidis (ATCC 13076). Inóculos de diluições seriadas das culturas bacterianas foram preparados e adicionados na massa cárnea de forma a se obter a concentração final de 10^2 células bacterianas por grama de massa. Como controle, a massa não contaminada experimentalmente também foi analisada (BARBOSA, 2016).

3.3.3 Análises microbiológicas

As alíquotas de massa cárnea contaminadas experimentalmente e os controles foram armazenados a 4°C e analisados após 0, 24, 48 e 72 horas. A

pesquisa de *Salmonella* foi realizada de acordo com U.S. Food and Drug Administration – FDA (ANDREWS et al., 2016).

3.4 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada de acordo com Silveira (2012), com algumas modificações. Alíquotas de 150 g da massa com e sem a adição dos óleos essenciais a 1,5% foram assados e avaliados por 60 avaliadores não treinados com faixa etária acima de dez anos de idade. Após assinatura do termo de consentimento (Anexo A), foram aplicadas as fichas de intenção de compra (Anexo B), ficha hedônica (Anexo C) e a ficha de pesquisa de mercado (Anexo D).

3.5 Análise estatística

As médias dos halos obtidos no teste de disco-difusão foram comparadas pelo teste de Tukey com uso do programa Statistix® (2003).

3.6 Comitê de ética Humana

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética Humana em Pesquisa da Universidade Federal de Pelotas, conforme parecer nº 1.768.126.

4 Resultados e discussão

4.1 Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais

4.1.1 Teste de disco-difusão

Todos os óleos essenciais avaliados no teste de disco-difusão apresentaram atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* e *E. coli* O157:H7 em diferentes intensidades (Tabela 1).

Tabela 1 - Tamanho dos halos (mm) de atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, detectada no teste de disco-difusão

Microrganismo	<i>O. vulgare</i> (5µL)	<i>O. basilicum</i> (5µL)	<i>O. vulgare</i> (2,5µL) + <i>O. basilicum</i> (2,5µL)
<i>S. aureus</i>	12,0a	7,0b	11,4a
<i>L. monocytogenes</i>	9,5a	7,5b	7,75 ab
<i>S. Typhimurium</i>	12,6a	7,4b	9,4ab
<i>S. Enteritidis</i>	9,0b	6,8c	12,0a
<i>E. coli</i> O157:H7	9,1a	7,7b	7,5ab

Os dados referem-se à média de triplicatas. Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não são estatisticamente diferentes ($p<0,05$).

Os halos de inibição formados pelos óleos essenciais de *O. vulgare* e *O. basilicum* indicam que estes óleos têm efeito inibitório distinto. *O. vulgare* apresentou atividade antimicrobiana mais intensa. Já os halos de inibição do óleo essencial de *O. basilicum* ficaram com diâmetro bem inferior, indicando baixa ação antimicrobiana. Estes resultados estão de acordo com outros estudos em que a atividade antimicrobiana de *O. vulgare* também foi observada (BUSATTA et al., 2007; ARAUJO E LONG, 2016 e BARBOSA et al., 2016).

Quando analisado o efeito antimicrobiano da mistura dos óleos essenciais de *O. vulgare* e *O. basilicum*, observa-se que houve duas situações distintas em que a mistura apresentou ação diferente dos óleos separadamente. Frente a *S. aureus* a mistura manteve a mesma ação apresentada pelo óleo de *O. vulgare* isoladamente, apesar deste óleo estar com a concentração pela metade. Isto significa que o óleo de *O. vulgare* mantém a mesma atividade inibitória tanto quando utilizados 5 µL (quantidade de óleo usada isoladamente) como 2,5 µL (quantidade de óleo na mistura) ou que houve um efeito sinérgico entre os óleos de *O. vulgare* e *O. basilicum* que premitiu a manutenção da ação inibitória mesmo com a metade da concentração de *O. vulgare*. Esta segunda hipótese é reforçada pelo efeito inibitório observado frente a *S. Enteritidis*, onde o diâmetro dos halos induzidos pela ação da mistura dos óleos foi maior do que os halos de qualquer um deles individualmente, indicando que houve sinergismo entre os óleos.

Um dos raros estudos utilizando mistura de óleos foi realizado por Barbosa et al. (2016), que verificou a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *O. vulgare* misturado com óleo de *R. officinalis* pelo teste de disco-difusão. Os óleos demonstraram interação sinérgica e foram efetivos frente a agentes patogênicos como *L. monocytogenes*, *E. coli* e *S. Enteritidis*.

4.1.2 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)

O óleo essencial de *O. basilicum* não apresentou efeito bactericida nas concentrações testadas (*S. aureus*, *L. monocytogenes* e *S. Typhimurium*) ou apresentou apenas em altas concentrações (*S. Enteritidis* e *E. coli* O157:H7), o que está de acordo com os resultados obtidos nos testes de disco-difusão, nos quais este óleo apresentou fraco efeito inibitório.

A tabela 2 apresenta os valores da CBM dos óleos essenciais de *O. vulgare*, *O. basilicum* e da mistura dos dois óleos.

Tabela 2 - Concentração bactericida mínima (μ L/mL) dos óleos essenciais de *O. vulgare*, de *O. basilicum* e da mistura dos dois óleos

Microrganismo	<i>O. vulgare</i>	<i>O. basilicum</i>	<i>O. vulgare + O. basilicum</i>
<i>S. aureus</i>	125	SE*	62,5
<i>L. monocytogenes</i>	125	SE*	250
<i>S. Typhimurium</i>	31,25	SE*	31,25
<i>S. Enteritidis</i>	15,5	250	31,25
<i>E. coli</i> O157:H7	62,5	500	125

Os testes foram realizados em triplicata e os valores foram os mesmos nas três repetições.

* SE = sem efeito antimicrobiano.

A menor concentração bactericida foi obtida com óleo de *O. vulgare* sobre *S. Enteritidis*. O efeito inibitório deste óleo, na disco-difusão, foi menor do que o da mistura dos óleos, entretanto, na CBM, a mistura necessitou de concentrações mais elevadas do que o óleo de *O. vulgare* isoladamente para exercer seu efeito bactericida sobre *S. Enteritidis*. Estes resultados indicam que o efeito sinergético verificado no teste de disco-difusão frente a *S. Enteritidis* não foi observado na CBM e que o efeito inibitório observado na disco-difusão não tem relação direta com o efeito bactericida determinado pela CBM, isto pode ser devido pela dificuldade de difusão dos óleos no meio e pela barreira física que os óleos fazem no ágar.

Nem sempre a atividade antimicrobiana obtida nos testes laboratoriais é observada quando os óleos são adicionados aos alimentos, devido a mudanças na concentração, ambiente do alimento, nutrientes dos alimentos até fatores ambientais e procedimentos de cultivo do condimento. Como as menores concentrações de óleo necessárias para obter efeito bactericida foram observadas frente a *Salmonella*, tanto por *O. vulgare* como pela mistura dos óleos, as cepas de *S. Enteritidis* e de *S. Typhimurium* foram selecionadas para os testes de contaminação experimental em massa para embutido cárneo.

4.2 Aplicações do óleo essencial de *O. vulgare* e da mistura dos óleos de *O. vulgare* e *O. basilicum* na massa para embutido cárneo

Apenas na concentração de 1,5% de óleo essencial adicionado à massa para embutido cárneo experimentalmente contaminada foi observado efeito bactericida sobre *Salmonella*, o que já ocorreu logo após a adição dos óleos (Tabela 3). O controle positivo apresentou crescimento de *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*, e o controle negativo não apresentou crescimento dessas bactérias durante todo o tempo de armazenamento a 4°C.

Tabela 3 - Recuperação de *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium* da massa para embutido cárneo experimentalmente contaminada adicionada de óleo essencial de *O. vulgare* e da mistura dos óleos de *O. vulgare* e *O. basilicum*

Óleos e concentrações	S. Enteritidis				S. Typhimurium			
	0h	24h	48h	72h	0h	24h	48h	72h
<i>O. vulgare</i> 0,5%	P*	P	P	P	P	P	P	P.
<i>O. vulgare</i> 1,0%	P	P	P	P	P	P	P	P
<i>O. vulgare</i> 1,5%	A	A	A	A	A	A	A	A
<i>O. vulgare</i> + <i>O. basilicum</i> 0,5%	P	P	P	P	P	P	P	P
<i>O. vulgare</i> + <i>O. basilicum</i> 1,0%	P	P	P	P	P	P	P	P
<i>O. vulgare</i> + <i>O. basilicum</i> 1,5%	A	A	A	A	P	P	P	P

*P = presença de *Salmonella* em 25 g; A = ausência de *Salmonella* em 25 g.

O óleo de *O. vulgare* apresentou efeito bactericida sobre ambos os sorotipos do microrganismo. Entretanto, esse mesmo óleo, quando misturado em quantidades iguais ao óleo de *O. basilicum*, perdeu seu efeito bactericida sobre o sorotipo Typhimurium de *Salmonella*. Considerando que o óleo de *O. vulgare* isoladamente não apresentou efeito bactericida sobre *S. Typhimurium* na concentração de 1%, não seria de se esperar que quando foi utilizada a mistura dos dois óleos a 1,5%, onde o óleo de *O. vulgare* está na concentração de 0,75%, apresentasse algum efeito, como ocorreu. Por outro lado, o mesmo não ocorreu em relação a *S. Enteritidis*, que não foi recuperada do alimento experimentalmente contaminado tanto quando misturado ao óleo de *O. vulgare* a 1,5% como quando adicionado da mistura dos óleos a 1,5%, mas foi recuperada do alimento com óleo de *O. vulgare* a

1%, mesmo após 72 horas de armazenamento. Estes resultados sugerem a ocorrência de sinergismo entre os dois óleos, o que também foi observado nos testes de disco-difusão e CBM.

A mistura dos óleos apresentou efeito bactericida distinto frente aos sorotipos *Enteritidis* e *Typhimurium*, o que deixa claro que há diferenças entre os sorotipos quanto à susceptibilidade aos óleos de *O. vulgare* e *O. basilicum*. Portanto, os estudos sobre a aplicação de óleos essenciais em alimentos com a finalidade de eliminar *Salmonella*, devem sempre incluir testes com diferentes sorotipos da bactéria, uma vez que a presença de *Salmonella* não é aceitável em alimentos destinados ao consumo humano, independentemente do sorotipo (BRASIL, 2001).

Resultados semelhantes aos do nosso trabalho foram obtidos por Barbosa (2010), que avaliou a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *O. vulgare* e *O. basilicum* em amostras de carne moída e hambúrguer bovinos contaminados artificialmente com *Salmonella* e verificou que o óleo essencial de *O. vulgare* na concentração 1,6% na carne moída e 1,2% no hambúrguer possibilitou eliminação de *S. Enteritidis* em 6 horas de contato com o alimento.

4.3 Análise sensorial

A elaboração da massa para embutido cárneo para a análise sensorial foi realizada na concentração de 1,5% de óleo essencial de *O. vulgare* e 1,5% da mistura dos óleos essenciais de *O. vulgare* e *O. basilicum*, visto que foi essa concentração que apresentou efeito antimicrobiano frente *S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*.

Na análise sensorial foi aplicada a ficha de pesquisa de mercado em que todos os 60 avaliadores relataram que consumiam embutido cárneo e o que mais desgostavam em um embutido cárneo era o excesso de gordura, sal e tempero. Na pergunta “qual o embutido cárneo com condimento você mais gostaria de consumir”, as opções eram “embutido cárneo com manjericão, embutido cárneo com orégano, embutido cárneo com manjericão e orégano e nenhuma das alternativas”, a maioria dos avaliadores respondeu que prefeririam o embutido cárneo com orégano e manjericão, seguido de embutido cárneo com orégano.

O atributo sabor entre o controle (sem adição de óleos) e as amostras com óleos essenciais de *O. vulgare* e mistura dos óleos essenciais de *O. vulgare* e *O. basilicum* apresentaram diferenças nos percentuais (Figura 1). O controle mostrou percentual elevado para os atributos “gostei moderadamente” e “gostei muito” respectivamente. Já as formulações acrescidas do óleo essencial resultaram em porcentagens de “desgostei muito” e “desgostei extremamente” superiores a opinião “gostei”. Na ficha de intenção de compra as amostras com adição de óleo essencial apresentaram percentuais elevados para “decididamente não compraria” e “compraria somente se fosse forçado” (Figura 2). Estes resultados apontam para a não aceitação pelos consumidores do produto adicionado de 1,5% de óleos essenciais, tanto de *O. vulgare* isoladamente quanto da mistura em quantidades iguais com o óleo de *O. basilicum*.

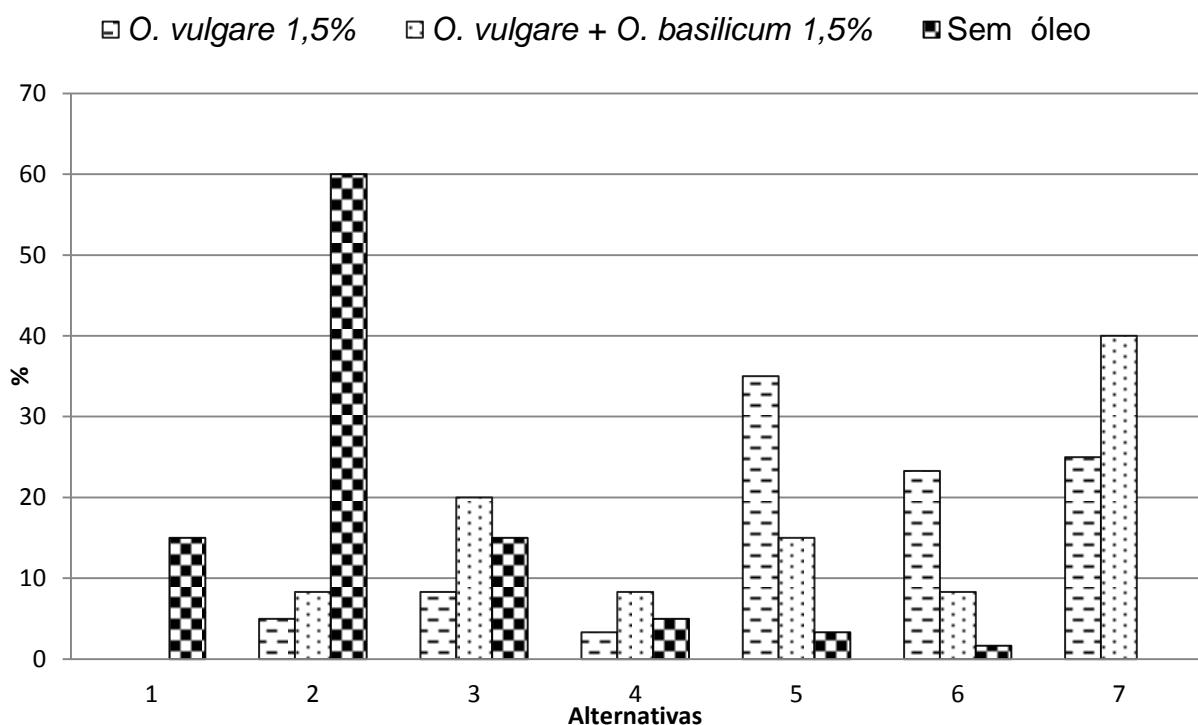


Figura 1 - Teste de intenção de compra para embutido cárneo acrescido de óleos essenciais; 1 = decididamente eu compraria, 2 = provavelmente eu compraria, 3 = talvez sim/talvez não, 4 = provavelmente eu não compraria, 5 = decididamente eu não compraria, 6 = compraria ocasionalmente, 7 = compraria somente se fosse forçado

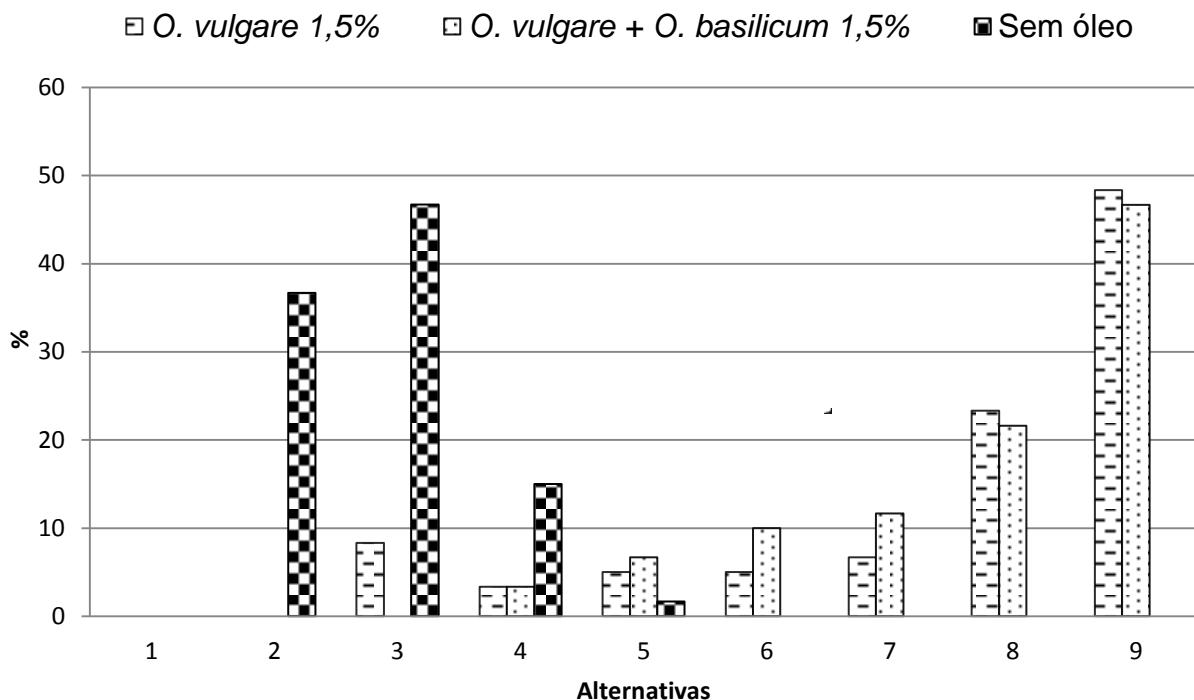


Figura 2 - Teste da aplicação da ficha hedônica para embutido cárneo acrescido de óleos essenciais; 1= Gostei extremamente, 2= Gostei muito, 3= Gostei moderadamente, 4= Gostei ligeiramente, 5= indiferente, 6= Desgostei ligeiramente, 7= Desgostei moderadamente, 8= Desgostei muito, 9= Desgostei extremamente.

Como demostrado, a concentração de 1,5% do óleo utilizada no presente trabalho foi efetiva para reduzir as contagens de contaminantes na massa para embutido cárneo, porém tais concentrações são elevadas e, quando avaliadas sensorialmente, a sua aceitabilidade não obtém o mesmo sucesso.

A maioria das estudos realizados aponta para o efeito antimicrobiano dos óleos essenciais, sem mencionar a sua aplicação em alimentos e a aceitabilidade dos consumidores (ERNANDES, 2007; MENEZES et al., 2009; CARAVIC et al., 2010, ALVES, 2010; POZZO et al. 2011; PROBIST, 2012; ANDRADE, 2013; AL ABBASY et al., 2015; ANSESIO, 2015; ARAUJO e LONGO, 2016) ou testam seu efeito antimicrobiano no alimento sem realizar avaliação sensorial (BOTRE et al., 2010). Dos poucos estudos que avaliaram a aceitação de alimentos adicionados de óleo essencial de *O. vulgare* estão os trabalhos de Barbosa (2010), com carne moída e hambúger, e de Santurio (2015), com linguiça. Os produtos avaliados apresentaram aceitação pelos consumidores, porém as concentrações de óleo eram bem inferiores às utilizadas no nosso estudo.

5 Considerações finais

O óleo essencial de *O. vulgare* apresenta atividade antimicrobiana contra os sorotipos *Typhimurium* e *Enteritidis* de *Salmonella*, *E. coli* O157:H7, *S. aureus* e *L. monocytogenes*. Esta atividade se mantém, em relação a *S. aureus*, e é amplificada, frente a *Salmonella* *Typhimurium*, quando misturado em quantidades iguais de óleo essencial de *O. basilicum*, o qual isoladamente apresenta pouca ou nenhuma ação antimicrobiana frente a estes microrganismos.

O óleo essencial de *O. vulgare* é bactericida para todas as bactérias testadas, sendo sua CBM para *Salmonella* relativamente baixa, especialmente para *S. Enteritidis*. A mistura dos óleos essenciais de *O. vulgare* e *O. basilicum* também apresenta CBM relativamente mais baixa para *Salmonella*. Já o óleo essencial de *O. basilicum* mostrou ser um fraco antimicrobiano, não apresentando efeito bactericida para maioria das bactérias testadas ou necessitando altas concentrações para eliminar os microrganismos.

O óleo essencial de *O. vulgare* e a mistura dos óleos essenciais de *O. vulgare* e *O. basilicum* adicionados em massa para embutido cárneo na concentração de 1,5% são capazes de eliminar *S. Enteritidis* do produto. Porém a eliminação de *S. Typhimurium* somente é obtida quando o óleo essencial de *O. vulgare* é aplicado isoladamente nas mesmas concentrações.

A adição de 1,5% de óleos essenciais, tanto de *O. vulgare* como da mistura dos óleos de *O. vulgare* e *O. basilicum*, à massa para embutido cárneo altera o seu sabor de modo a deixar o produto inaceitável pelos consumidores, o que inviabiliza a sua utilização no controle de *Salmonella* em embutidos cárneos.

Os estudos sobre a utilização de óleos essenciais em alimentos como forma de controle de microrganismos indesejáveis devem sempre incluir a avaliação sensorial, sob pena das inferências feitas com base nos resultados serem equivocadas quanto à sua aplicação prática.

Novos estudos com *O. vulgare* e *O. basilicum* visando ao controle de microrganismos patogênicos em alimentos serão mais promissores se realizados a partir da purificação dos seus princípios ativos, os quais quando aplicados em alimentos talvez possam minimizar ou eliminar os efeitos indesejáveis das características organolépticas do produto, mantendo sua atividade bactericida.

Referências

ABNT. NBR 12994: Métodos de análise sensorial dos alimentos e bebidas. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. Rio de Janeiro, 1993.

AL ABBASY, D. W.; PATHARE, N.; AL-SABAHI, J. N.; KHAN, S. A. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil isolated from Omani basil (*Ocimum basilicum Linn.*) **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 5, n. 8, p. 645-649, 2015.

ALEIXO, C. G. **Efeito dos óleos essenciais e compostos majoritários sobre endósporos de *Clostridium botulinum* inoculados em mortadela.** 2013. 60f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola, Universidade Federal de Lavras. 2013.

ALVES, R. **Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais obtidos de folhas de manjericão, pimenta de macaco e tomilho sobre patógenos em alimentos.** 2010, 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

ANDRADE, M. A. **Óleos essenciais de *Cinnamodendron dinisii* Schwacke e *Siparuna guianensis* Aublet: Composição química, caracterização das estruturas secretoras e avaliação do potencial biológico.** 2013. 227f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agroquímica. Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2013.

ANDREWNS, W.H.; WANG, H.; ANDREW, J.; HAMMACK, T. **Salmonella U.S Food and Drug Administration Bioteriological analytical manual**, Chapter 5, 2016. Disponível em:
<https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>. Acesso em: 18 set. 2017.

ANSESIO, C. M.; GROSSO, N. R.; JULIANI, H. R. Quality characters, chemical composition and biological activities of oregano (*Origanum* spp.). Essential oils from

Central and Southern Argentina. **Industrial Crops and Products**, v.63, p. 203-213, 2015.

ARAUJO, M. M.; LONGO, L. P. Teste de ação antimicrobiana *in vitro* de óleo essencial comercial de *Origanum vulgare* (orégano) diante das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. **Institute Biológico**, v. 83, p. 1-7. 2016.

BAJPAI, V. K.; BAEK, K. H.; KANG, S. C. Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: A review. **Food Research International**, v. 45, p. 722-734, 2012.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils- A review, **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008.

BARBOSA, N. L. **Propriedade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas condimentares com potencial de uso como conservantes em carne e hambúrguer bovino e testes de aceitação**. 2010. 121f. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2010.

BARBOSA, M. I.; MEDEIROS, C. A. J.; OLIVEIRA, R. A. K.; NETO, G. J. N.; TAVARES, F. J.; MAGNANI, M.; SOUZA, L. E. Efficacy of the combined application of Orégano and Rosemary essential oils for the control of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* in leafy vegetables. **Food Control**, v. 59, p. 468-477, 2016.

BIZZO, H.; HOVELL, A. M. C.; REZENDE, C. M. Óleos Essenciais no Brasil: Aspectos gerais, Desenvolvimento e Perspectivas. **Química Nova**, v. 32, p. 588-594, 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Resolução-RDC nº12, de 02/01/01, **Diário Oficial da União**, Brasília, 10 jan. 2001. Seção I, p. 45-53.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, v. 2 /Brasília: Anvisa, 2010, 904p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no 83 de 21 de novembro de 2003. Dispõe sobre os regulamentos técnicos de identidade e qualidade de carne moída de bovino. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, 2003.

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

BURT, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, p. 223–253. 2004.

BUSATTA, C.; MOSSI, A. J.; RODRIGUES, M. R.; CANSIAN, R. L.; OLIVEIRA, J. V. Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, p. 610-616, 2007.

CABRAL, I. S. R.; OLDONI, T. L. C.; PRADO, A.; BEZERRA, R. M. N.; ALENCAR, S. M. Composição fenólica, atividade antimicrobiana e antioxidante da própolis vermelha Brasileira, **Química Nova**, v. 32, n.6, p. 1523-1527, 2009.

CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; CORLISS, A. O.; STEVEN C. R. Essential Oils as Antimicrobials in Food Systems- A Review, **Food Control**, v. 54, p. 111-119, 2015.

CARAVIC-STANKO, K.; ORLIC, S.; POLITEO, O.; STRIKIC, F; KOLAK, I.; MILOS, M.; SATOVIC, Z. Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa. **Food Chemistry**, v. 119, p. 196-201, 2010.

CARNICER, N. A.; OLIVEIRA, A. P.; AMARAL, F. J.; ANDRIOLI, R. G. L. **Monitoramento dos níveis de nitrito encontrados em linguiças artesanais comercializadas em Lins/SP**. 2007. 41f, Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Química) - Centro Universitário Católico Salesiano, São Paulo. 2007.

CLSI, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Ninth Edition. CLSI document M07-A9. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087, USA, 2012.

CODÉX ALIMENTARUIS. **A higiene dos alimentos**. Textos básicos. Brasil: Organização Pan-Americana da Saúde; Organização Mundial da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2006.

DORMAN, H.; DEANS, S. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal of Applied Microbiology**, v. 88, n. 2, p. 308-16, 2000.

DUARTE, M. T. **Avaliação do teor de nitrito de sódio em linguinças do tipo frescal e cozida comercializadas no estado do Rio de Janeiro, Brasil.** 2010, 87f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2010.

ERNANDES, G. O. M. F.; CRUZ, G. H. C. Atividade antimicrobiana de diversos óleos essenciais em microrganismos isolados do meio ambiente. **B. CEPPA**, v. 25, p. 193-206, 2007.

FENNEL, C. W.; LINDSEY, K. L.; GAAW, L. J.; SPARG, S. G.; STAFFORD, G. I.; ELGORASHI, E. E.; GRACE, O. M.; VAN, S. Review: Assessing African medicinal plants for efficacy and safety: Pharmacological screening and toxicology. **Jounal Ethnopharmacol**, v. 94, p. 205-217, 2004.

FONSECA, I. P. **Efeito de óleos essenciais de plantas aromáticas no comportamento de *Salmonella* spp. em salsichas frescas.** 2012, 68f. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar) – Programa de Pós-Graduação em Segurança Alimentar, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2012.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Atheneu. 2003. 108p.

GODINHO, V. M. **Investigação de bactérias patogênicas por técnicas moleculares em um sistema de tratamento de esgotos compostos por reator UASB e lagoas de polimento.** 2010. Dissertação (Mestrado em Saneamento) - Programa de Pós-Graduação em Saneamento, Meio Ambiente e Recursos Hídricos, da Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2010.

KOKKINI, S.; VOKOU, D. Carvacrol-rich plants in Greece. **Flavour and fragrance journal**, v. 4, n. 1, p. 1-7, 1989.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PARKER, J. **Brock biology of microorganisms.** 10. ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 2003.

MAIA, J. G. S. Os recursos vegetais aromáticos no Brasil: Seu aproveitamento industrial para produção de aromas e sabores. **Edufes**, Vitoria, ES, 2008.

MARTUCCI, J. F.; GENDE, L. B.; RUSECKAITE, R. A. Orégano and lavander essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films. **Industrial Crops and Products**, v. 71, p. 205-213, 2015.

MATTOS, S. H.; INNECCO, R.; MARCO, C. A.; ARAÚJO, A. V. Plantas medicinais e aromáticas cultivadas no Ceará: tecnologia de produção e óleos essenciais. Fortaleza. **Banco do Nordeste do Brasil**, 2007. p. 61-63.

MENEZES, T. O. A.; ALVES A. C. B. A.; VIEIRA, J. M. S.; MENEZES, S. A. E.; ALVES, B. P.; MENDONÇA, L. C. V. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos de plantas da região amazônica sobre cepa de *Candida albicans*. **Ver Odontol UNESP**, v. 38, p. 184-191, 2009.

MORAES, M. S.; CAVALCANTI, B. S. E.; COSTA, O. M. S.; AGUIAR, A. L. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, p. 315-320, 2009.

NIU, Y.; GAO, B.; SLAVIN, M.; XIAOWEI, Z.; YANG, F.; BAO, J.; SHI, H.; XIE, Z.; YOU, L. Y. Phytochemical compositions, and antioxidant and anti-inflammatory properties of twenty-two rice samples grown in Zhejiang. **LWT- Food Science and Technology**, v. 54, p. 521-527, 2013.

ORDÓÑEZ, A.J e colaboradores. **Tecnologia de Alimentos: Alimentos de origem animal, volume 2**. São Paulo: Artmed, 2005. 279p.

PESAVENTO, G.; CALONICO, C.; BILIA, A. R.; CALESINI, F.; ADDONA, R.; MENCARELLI, L.; CARMAGNINI, L.; MARTINO, D. M. C.; NOSTRO, L. A. Antibacterial activity of orégano, rosmarinus and thymus essential oils against *Sthaphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beet meat balls. **Food Control**, v. 54, p. 188-199, 2015.

PINTO, A. J. T.; KANEKO, M. T.; PINTO, F. A. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. 4º edição. São Paulo: Manole. 2015. 432p.

PITARO, S. P.; FIORANI, L. V.; JORGE, N. Potencial antioxidante dos extratos de manjericão (*Ocimum basilicum Lamiaceae*) e orégano (*Origanum vulgare Lamiaceae*) em óleo de soja. **Revista Brasileira Médica**, v. 14, p. 686-691, 2012.

POZZO, D. M.; VIÉGAS, J.; SANTURIO, D. F.; ROSSATTO, L.; SOARES, H. I.; ALVES, H. A.; COSTA, M. M. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de condimentos frente a *Staphylococcus* spp. isolados de mastite caprina. **Ciência Rural**, v. 23, p. 1-6, 2011.

PROBIST, I. S. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico**. 2012, 112f. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e

Aplicada) – Pós-Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

RATTANACHAIKUNSOPON, P.; PHUMKACHORN, P. Antimicrobial activity of Basil (*Ocimum basilicum*) oil against *Salmonella Enteritidis* *in vitro* and in food. **Biosci. Biotechnol. Biochem.**, v. 74, p. 1200-1204, 2010.

RELLER, L. B.; WEINSTEIN, M.; JORGENSEN, H. J.; FERRARO, J. M. Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary practices. **Medical Microbiology**, v. 49, p. 1749-1755, 2009.

RIBEIRO, S. D. **Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis L.*) frente a bactérias isoladas de alimentos: Estudos *in vitro* e em matriz alimentícia.** 103f. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal da Bahia. Bahia, 2011.

SANTOS, J. C.; FILHO, C. D. C.; BARROS, T. F.; GUIMARÃES, G. A. In vitro activity of essential oils from orégano, garlic, clove and lemon against pathogenic bacteria isolates from anomalous cardia brasiliensis. **Ciências Agrárias**, v. 32, p. 1557-1564, 2011.

SANTURIO, F. D. **Uso de óleos essenciais de especiarias para controle de coliformes em linguiça toscana.** 2015, 62f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia em Alimentos) – Programa de Pós-Graduação Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2015.

SILVEIRA, S. **Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante de extratos vegetais de óleos essenciais e aplicação do óleo essencial de Louro (*L. nobilis*) como agente conservador natural em embutido cárneo frescal.** 2012, 215f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, P. E.; GOSMANN, G.; MELLO, P. C. J.; MENTZ, A. L.; PETROVICK, R. P. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 6. edição. Porto Alegre: UFRGS, 2010, 1104p.

SIVROPOULOU, A.; PAPANIKOLAOU, E.; NIKOLAOU, C.; KOKKINI, S.; SOKOVIC, M.; MARIN, D. P.; BRKIC, D.; GRIENSVEN, D. L. J. L. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of ten aromatic plants against human pathogenic bacteria. **Food.** v. 1, n. 2, p. 220-226, 2008.

SOUZA, E. L. **Potencial antimicrobiano do óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare L.*): Uma abordagem para uso em sistemas de conservação de alimentos.** Recife, 143p. Tese (Doutorado em Nutrição) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2006.

SOUZA, E. L.; LIMA, E. O.; NARAIM, N. Especiarias: uma alternativa para o controle da qualidade sanitária e de vida útil de alimentos, frente as perspectivas da indústria alimentícia. **Higiene Alimentar**, v. 17, p. 38-42, 2003.

SOUZA, T. G. **Efeito do óleo essencial de *Origanum vulgare L.* sobre o crescimento de bactérias patogênicas e tecnológicas em queijo de coalho.** Paraíba, 70p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 2015.

STATISTIX®. **Statistix 8 analytical software.** Tallahassee, Florida, USA, 2003.

TEIXEIRA, V. L. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Revista Instituto Laticínio Cândido Tostes**, v. 64, p. 12-21, 2009.

Anexos

**Anexo A - Termo de consentimento para análise sensorial
e de consentimento livre e esclarecido**

Pelo presente consentimento livre e esclarecido, eu, _____, declaro que fui convidado a participar da pesquisa e que fui esclarecido, de forma clara e detalhada, dos objetivos, da justificativa e os procedimentos, sobre a participação voluntária e com direito a desistência de participar e retirar meu consentimento, não havendo riscos, sendo os resultados para fins acadêmicos e que somente assinarei o termo após ter sido esclarecido e concordar com a pesquisa, através de encontro individual e livre de qualquer forma de constrangimento e coerção.

Fui informado(a) que uma cópia assinada do TCLE ficará com o participante.

PROJETO: Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais de *Origanum vulgare* (orégano) e *Ocimum basilicum* (manjericão) e sua aplicação em massa para embutido cárneo.

OBJETIVOS: Fui informado(a) de que o objetivo desta pesquisa é:

- Determinar o rendimento dos óleos essenciais extraídos de orégano e manjericão;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais frente aos microrganismos *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sorotipos Typhimurium e Enteritidis;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais em massa para embutido cárneo;
- Testar a aceitabilidade para o consumo de embutido cárneo com adição dos óleos essenciais.

Os resultados serão mantidos em sigilo e somente serão usados para fins de pesquisa.

JUSTIFICATIVA: A adição de nitritos e nitratos no produto cárneo tem como principal objetivo inibir o crescimento de algumas espécies de microrganismos

causadores de toxinfecções. Entretanto tais aditivos podem ser prejudiciais à saúde podendo ocasionar o desencadeamento de algumas doenças, dentre elas o câncer. Os óleos essenciais apresentam potencial como uma alternativa de substituição dos sais de cura por aditivos naturais, em função de possíveis efeitos antimicrobiano, devido à presença de compostos como carvracol e timol.

PROCEDIMENTOS: Fui informado(a) de que receberei amostras do produto embutido cárneo com adição de óleos essenciais de orégano e manjericão, para que eu avalie as características sensoriais do produto, incluindo a aplicação de fichas de intenção de compra com escala de 7 pontos, ficha hedônica com escala de 9 pontos e ficha de intenção de mercado.

A duração esperada para o procedimento é de 20 a 30 minutos.

RISCOS E POSSÍVEIS REAÇÕES: Fui informado(a) que não há riscos mencionados na bibliografia sobre a ingestão de óleos essenciais e reações alérgicas.

BENEFÍCIOS: O benefício de participar da pesquisa relaciona-se ao fato que os resultados serão incorporados ao conhecimento científico e posteriormente a situações de ensino-aprendizagem. Os sais de cura adicionados intencionalmente em embutidos cárneos com o intuito de aumentar a vida útil dos mesmos são maléficos à saúde e a substituição destes por aditivos naturais é benéfica para a saúde dos consumidores.

REMUNERAÇÃO: NÃO haverá remuneração associada à participação na pesquisa.

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA: A minha adesão à pesquisa ocorrerá de forma voluntária e nenhum tipo de penalidade será aplicado caso não seja do meu interesse participar.

CONFIDENCIALIDADE: Estou ciente que a minha identidade permanecerá confidencial durante o estudo e que os dados coletados só serão utilizados para fins de pesquisa.

CONSENTIMENTO: Ciente das informações citadas anteriormente, eu concordo em participar da avaliação sensorial dos produtos elaborados na pesquisa.

PELOTAS, ____ de _____ de _____

Assinado por:

Patrícia Gomes Vivian
(Pesquisadora responsável)

PELOTAS, ____ de _____ de _____

Assinado por:

Participante da pesquisa

Pesquisadores:

Patrícia Gomes Vivian

Endereço: Campus Capão do Leão, prédio 34
Telefone: (55) 9 9109-1139

Cláudio Dias Timm

Endereço: Campus Capão do Leão, prédio 34
Telefone: (53) 9 8115-1424

Eliezer Gandra

Endereço: Campus Capão do Leão

Telefone: (xx) x xxxx-xxxx

Greyce Silveira Mello

Endereço: Campus Capão do Leão, prédio 34

Telefone: (51) 9 9933-1922

Comitê de Ética em Pesquisa

Telefone: (53) 3284-4960

Anexo B - Ficha de intenção de compra

NOME: _____ DATA: ___ / ___ / ___

FAIXA ETÁRIA: 18 a 30 anos: _____ 30 a 45 anos: _____ 45 a 60 anos: _____

60 a 75 anos: _____ mais de 75 anos: _____

SEXO: () masculino () feminino

Você está recebendo uma amostra embutido cárneo com adição de óleos essenciais de orégano e manjericão.

Por favor, prove a amostra e avalie utilizando a escala abaixo se você compraria ou não este produto, marque a posição que melhor avalie seu julgamento.

CÓDIGO DAS AMOSTRAS: _____, _____, _____.

- | | | |
|--|-----|-----|
| () Decididamente eu compraria | () | () |
| () Provavelmente eu compraria | () | () |
| () Talvez sim/ Talvez não | () | () |
| () Provavelmente eu não compraria | () | () |
| () Decididamente eu não compraria | () | () |
| () Compraria ocasionalmente | () | () |
| () Compraria somente se fosse forçado | () | () |

Comentários: _____

Anexo C - Ficha hedônica

NOME: _____ DATA: ___ / ___ / ___

FAIXA ETÁRIA: 18 a 30 anos: _____ 30 a 45 anos: _____ 45 a 60 anos: _____

60 a 75 anos: _____ mais de 75 anos: _____

SEXO: () masculino () feminino

Você está recebendo uma amostra de embutido cárneo com adição de óleos essenciais de orégano e manjericão.

Por favor, prove a amostra e avalie utilizando a escala abaixo para dizer o quanto você gostou ou desgostou do produto, marque a posição que melhor reflete o seu julgamento.

CÓDIGO DA AMOSTRA: _____, _____, _____

- | | | |
|-----------------------------|-----|-----|
| () Gostei extremamente | () | () |
| () Gostei muito | () | () |
| () Gostei moderadamente | () | () |
| () Gostei ligeiramente | () | () |
| () Indiferente | () | () |
| () Desgostei ligeiramente | () | () |
| () Desgostei moderadamente | () | () |
| () Desgostei muito | () | () |
| () Desgostei extremamente | () | () |

Comentários: _____

Anexo D - Ficha de pesquisa de mercado

NOME: _____ **DATA:** ____ / ____ / ____

FAIXA ETÁRIA: 18 a 30 anos: ____ 30 a 45 anos: ____ 45 a 60 anos: ____

60 a 75 anos: ____ mais de 75 anos: ____

SEXO: () masculino () feminino

ESCOLARIDADE: _____

Analise sensorial do embutido cárneo com adição de óleos essenciais de orégano e manjericão.

Você consome carne? () sim () não

Com que frequência você consome carne? () todos os dias () 3 a 4 x na semana () 1 a 2 x na semana () não consome

Quais os tipos de carne que você mais consome? _____

Você consome embutido cárneo? () sim () não

Com que frequência você consome? () todos os dias () 3 a 4 x na semana () 1 a 2 x na semana () não consome

O que você não gosta em um embutido cárneo? _____

Se não tem o costume, gostaria de consumir? () sim () não

Qual o embutido cárneo com condimento você mais gostaria de consumir:

- () Embutido cárneo com manjericão () Embutido cárneo com orégano
- () Embutido cárneo com manjericão e orégano
- () Nenhuma das alternativas

Com que frequência você iria consumir este embutido cárneo?

- () todos os dias () 3 a 4 x na semana () 1 a 2 x na semana
- () consumiria raramente

Você tem dificuldades em consumir embutido cárneo com condimentos? Qual é a sua dificuldade?
