



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS NATURAIS**  
**DOUTORADO ACADÊMICO EM CIÊNCIAS NATURAIS**

**MARIA GLEICIANE SOARES COUTINHO**

**USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *SYZYGIUM AROMATICUM* E *ZINGIBER OFFICINALE* COMO CONSERVANTES NATURAIS NA PRODUÇÃO E ARMAZENAMENTO DE LINGUIÇA TOSCANA**

**FORTALEZA – CEARÁ**

**2023**

MARIA GLEICIANE SOARES COUTINHO

USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *SYZYGIUM AROMATICUM* E *ZINGIBER OFFICINALE* COMO CONSERVANTES NATURAIS NA PRODUÇÃO E ARMAZENAMENTO DE LINGUIÇA TOSCANA

Tese apresentada ao curso de Doutorado Acadêmico do Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Ciências Naturais. Área de concentração: Aproveitamento de Recursos Naturais.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Raquel Oliveira dos Santos Fontenelle

Coorientadora: Dr.<sup>a</sup> Maria do Socorro Rocha Bastos

FORTALEZA – CEARÁ

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Estadual do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo SidUECE, mediante os dados fornecidos pelo(a)

---

Coutinho, Maria Gleiciane Soares.

Uso de óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Zingiber officinale* como conservantes naturais na produção e armazenamento de linguiça toscana [recurso eletrônico] / Maria Gleiciane Soares Coutinho. - 2023.

102 f. : il.

Tese (doutorado acadêmico) - Universidade Estadual do Ceará, Centro de Ciências e Tecnologia, Curso de Programa de Pós-graduação Em Ciências Naturais - Doutorado, Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof.<sup>a</sup> Dra. Raquel Oliveira dos Santos Fontenelle.

Coorientação: Prof.<sup>a</sup>. Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos.

1. Antimicrobianos. 2. Bactérias patogênicas. 3. Embalagens ativas. I. Título.

---

MARIA GLEICIANE SOARES COUTINHO

USO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE *SYZYGIUM AROMATICUM* E *ZINGIBER OFFICINALE* COMO  
CONSERVANTES NATURAIS NA PRODUÇÃO E ARMAZENAMENTO DE LINGUIÇA TOSCANA

Tese apresentada ao curso de Doutorado Acadêmico do Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais do Centro de Ciências e Tecnologia da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutora em Ciências Naturais. Área de concentração: Aproveitamento de Recursos Naturais.

Aprovação em: 28 de agosto de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof.ª Dr.ª Raquel Oliveira dos Fontenelle (Orientadora)  
Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA

Dr.ª Maria do Socorro Rocha Bastos (Coorientadora)  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa

Documento assinado digitalmente:  
 ANA SANCHA MALVEIRA BATISTA  
Data: 28/08/2023 23:14:54-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof.ª Dr.ª Ana Sancha Malveira Batista  
Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA

Prof. Dr. Hécio Silva dos Santos  
Universidade Estadual Vale do Acaraú - UVA

Prof.ª Dr.ª Angela Maria de Vasconcelos  
Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA

Documento assinado digitalmente:  
 NAYANNE LIMA DOS SANTOS  
Data: 05/09/2023 14:37:39-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof.ª Dr.ª Nyanne Lima dos Santos  
Instituto Federal do Ceará - IFCE

**À Deus**

**À minha família**

*Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus por ser essencial em minha vida, por me dar saúde e força para superar todos os obstáculos e colocar pessoas maravilhosas em minha vida, que estão sempre ao meu lado me incentivando e apoiando. Obrigada por mais essa conquista.

Aos meus pais, Raimunda Soares Coutinho e Francisco Ferreira Coutinho pelo carinho, amor, incentivo e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida.

As minhas irmãs Viviane, Ariane, Lidiane e Conceição pela amizade, companheirismo, alegrias, carinho, amor e cuidado, sempre estiveram ao meu lado em todos os momentos.

À minha orientadora, Raquel Oliveira dos Santos Fontenelle, pelo incentivo, paciência e confiança depositadas em mim. Agradeço pela orientação ensinamentos, conhecimentos, e sabedoria para comigo compartilhadas, pela disponibilidade que sempre teve. Sem dúvida, é um grande exemplo de profissional e de pessoa. Professora, muito obrigada!

À minha coorientadora, Dra. Maria do Socorro Rocha Bastos, por toda a coorientação, acolhimento, paciência, apoio, por todos os ensinamentos. Muito obrigada!

À professora Ana Sancha Malveira Batista, do Laboratório de Tecnologia de Produtos Agropecuários da Universidade Estadual Vale do Acaraú, pela disposição de espaço e materiais, que foram de suma importância para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao professor Hélcio Silva dos Santos, do Laboratório Químico de Produtos Naturais da Universidade Estadual Vale do Acaraú, pela disposição do laboratório e materiais, utilizados para a obtenção dos óleos essenciais analisados.

Aos integrantes do Laboratório de Microbiologia da Universidade Estadual Vale do Acaraú: Silmara Moreira, Thaís Lira, Andréa Neves, Marcílio Matos, Nádia Brito, Ailton Dias, Ingrid Fernandes e Pedro Rodrigues. Do Laboratório de Embalagens da Embrapa Agroindústria Tropical: Leônia da Costa, Joana Alexandre, Gabrielle Albuquerque, Luana Carvalho, Rachel Menezes, Marília Oliveira, em especial Kelvi Miranda, Maryana Frota, Vitória Souza, Nyanne Lima e Jéssica Azevedo. Do Laboratório de Tecnologia de Produtos Agropecuários: Suzana Moreira, Elane Duarte e Pedro Tayson. Do Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Ceará: Júlio César Prado e Guilherme Prado. Muito obrigada a todos que contribuíram direto ou indiretamente para finalização desse trabalho, sem vocês não teria conseguido concluir as análises. Obrigada pelos conhecimentos, alegrias, risadas, convívio, apoio, incentivos em todos os momentos.

À Universidade Estadual Vale do Acaraú, Universidade Federal do Ceará e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, especialmente aos Laboratórios de Microbiologia

(UVA e UFC) e Laboratório de Embalagens da Embrapa Agroindústria Tropical, pela disponibilidade do espaço, equipamentos e materiais necessários para a realização dos experimentos.

À Universidade Estadual do Ceará, em especial ao Programa de Pós-graduação em Ciências Naturais.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela a bolsa concedida durante o período de realização do doutorado.

## RESUMO

O consumo de embutidos cárneos tem apresentado grande expansão nas últimas décadas, sua composição química favorece o crescimento de patógenos e bactérias deteriorantes. Os óleos essenciais são uma alternativa promissora para utilização na conservação dos alimentos. Assim, o estudo objetivou avaliar a qualidade da linguiça produzida com óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Zingiber officinale* e produzir filme de alginato de sódio e celulose bacteriana contendo óleo essencial de *S. aromaticum*. Foi determinada a composição dos óleos essenciais. A ação antimicrobiana pelo método de microdiluição em caldo contra cepas ATCC de *S. aureus*, *E. coli* e um isolado clínico de *Salmonella* sp. Foram produzidas linguiças com adição de óleo essencial, 0%; C0,1%; C0,2% (cravo-da-índia) e G0,2%; G0,4% (gengibre), as quais foram armazenadas por 28 dias e submetidas a análise física: pH, cor, capacidade de retenção de água e perda de peso por cocção, análise química: umidade, proteínas, lipídeos e cinzas, análise sensorial: cor, aroma, sabor, maciez e avaliação global, avaliação microbiológica: contagem de *E. coli*, *Salmonella* sp. e contagem total de mesófilos. A escolha do filme para a incorporação do óleo essencial de *S. aromaticum* foi determinada pelo delineamento Box-Behnken, utilizando as variáveis independentes: alginato de sódio (X1), glicerol (X2) e celulose bacteriana (X3) e variáveis dependentes permeabilidade ao vapor de água e espessura. A atividade antimicrobiana do filme foi determinada pelo método de disco-difusão, frente as cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella* sp. Os compostos majoritários dos óleos essenciais de *S. aromaticum* e *Z. officinale* são eugenol (62,81%) e geranial (22,33%), respectivamente. Os óleos essenciais têm ação inibitória frente a *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella* sp. em concentrações entre 0,625 e 2,500 mg/mL. Não houve variação da capacidade de retenção de água durante os 28 dias, já a perda de peso por cocção diminuiu no 28º dia. As linguiças estão de acordo com os padrões físico-químicos determinados pela legislação brasileira. A adição dos óleos essenciais não diferiu ( $P > 0,05$ ), para os parâmetros aroma, cor, avaliação global e intenção de compra. A inclusão de óleo essencial de *S. aromaticum* e *Z. officinale* reduziram a contagem de *E. coli* e aeróbias mesófilas. A partir do delineamento experimental foi escolhido o filme 4 (3,25% alginato, 4,00% glicerol e 0,10% de CB) para incorporação de 1,5% de óleo essencial de *S. aromaticum*. O filme apresentou potencial antimicrobianos frente a todas as cepas testadas. Portanto, os óleos essenciais estudados e o filme produzido com óleo essencial de *S. aromaticum* mostram potencial para serem utilizados como conservantes naturais em embutidos cárneos.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos; Bactérias patogênicas; Embalagens ativas.

## ABSTRACT

The consumption of meat sausages has shown great expansion in recent decades, their chemical composition favors the growth of pathogens and spoilage bacteria. Essential oils are a promising alternative for use in food preservation. Thus, the study aimed to evaluate the quality of sausage produced with *Syzygium aromaticum* and *Zingiber officinale* essential oils and produce sodium alginate and bacterial cellulose film containing *S. aromaticum* essential oil. The composition of the essential oils was determined. The antimicrobial action by the broth microdilution method against ATCC strains of *S. aureus*, *E. coli* and a clinical isolate of *Salmonella* sp. Sausages were produced with the addition of essential oil, 0%; C0.1%; C0.2% (clove) and G0.2%; G0.4% (ginger), which were stored for 28 days and subjected to physical analysis: pH, color, water retention capacity and weight loss due to cooking, chemical analysis: moisture, proteins, lipids and ash, sensory analysis : color, aroma, flavor, softness and overall evaluation, microbiological evaluation: *E. coli* count, *Salmonella* sp. and total mesophil count. The choice of film for incorporating *S. aromaticum* essential oil was determined by the Box-Behnken design, using the independent variables: sodium alginate (X1), glycerol (X2) and bacterial cellulose (X3) and dependent variables vapor permeability of water and thickness. The antimicrobial activity of the film was determined by the disk diffusion method, against strains of *S. aureus*, *E. coli* and *Salmonella* sp. The major compounds in the essential oils of *S. aromaticum* and *Z. officinale* are eugenol (62.81%) and geranial (22.33%), respectively. Essential oils have an inhibitory action against *S. aureus*, *E. coli* and *Salmonella* sp. in concentrations between 0.625 and 2.500 mg/mL. There was no variation in water retention capacity during the 28 days, whereas cooking weight loss decreased on the 28th day. The sausages comply with the physical-chemical standards determined by Brazilian legislation. The addition of essential oils did not differ ( $P>0.05$ ) for the parameters aroma, color, overall evaluation and purchase intention. The inclusion of essential oil from *S. aromaticum* and *Z. officinale* reduced the count of *E. coli* and mesophilic aerobes. Based on the experimental design, film 4 (3.25% alginate, 4.00% glycerol and 0.10% CB) was chosen to incorporate 1.5% *S. aromaticum* essential oil. The film showed antimicrobial potential against all strains tested. Therefore, the essential oils studied and the film produced with *S. aromaticum* essential oil show potential to be used as natural preservatives in meat sausages.

**Keywords:** Antimicrobials; Pathogenic bacteria; Active packaging.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1 - Estrutura química do eugenol.....</b>	<b>23</b>
<b>Figura 2 - Estrutura química do geranial.....</b>	<b>24</b>
<b>Figura 3 - Estrutura do alginato de sódio.....</b>	<b>26</b>
<b>Figura 4 - Estrutura química do glicerol.....</b>	<b>27</b>
<b>Figura 5 - Fluxograma da estratégia abordada para a seleção dos artigos .....</b>	<b>31</b>
<b>Figura 6 - Representações 3D das interações de a: Plastificante-CB b: Plastificante-Alginato e c: Alginato-CB no PVA .....</b>	<b>69</b>
<b>Figura 7 - Representações 3D das interações de a: Plastificante-Alginato b: Plastificante CB e c Alginato-CB na espessura.....</b>	<b>70</b>
<b>Figura 8 - Halo de inibição a: <i>E. coli</i>, b: <i>S. aureus</i> e <i>Salmonella</i> sp.....</b>	<b>72</b>

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Composição química dos óleos essenciais de <i>Syzygium aromaticum</i> e <i>Zingiber officinale</i> .....	50
Tabela 2 -	Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima dos óleos essenciais de <i>Syzygium aromaticum</i> e <i>Zingiber officinale</i> frente as cepas de <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Salmonella</i> sp.....	52
Tabela 3 -	Características físicas de linguiça toscana adicionada de óleos essenciais de <i>Syzygium aromaticum</i> e <i>Zingiber officinale</i> ao longo do armazenamento.....	53
Tabela 4 -	Composição química de linguiça toscana adicionada de óleos essenciais de <i>Syzygium aromaticum</i> e <i>Zingiber officinale</i> .....	54
Tabela 5 -	Características sensoriais de linguiça toscana adicionadas de óleos essenciais de <i>Syzygium aromaticum</i> e <i>Zingiber officinale</i> .....	55
Tabela 6 -	Qualidade microbiológica de linguiça contendo óleos essenciais de <i>Syzygium aromaticum</i> e <i>Zingiber officinale</i> .....	57
Tabela 7 -	Variáveis independentes e ensaios experimentais de BBD para formulações do filme.....	64
Tabela 8 -	Composição química do óleo essencial de <i>Syzygium aromaticum</i> .....	67
Tabela 9 -	Concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima do óleo essencial de <i>Syzygium aromaticum</i> frente as cepas de <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Salmonella</i> sp.....	68
Tabela 10 -	Variáveis dependentes do delineamento Box-Behnken.....	71
Tabela 11 -	Halo de inibição do filme ACO contra as cepas de <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Salmonella</i> sp.....	72

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DTAs	Doenças Transmitidas por Alimentos
OE	Óleo essencial
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
GRAS	Geralmente Reconhecido como Seguro
FDA	Food and Drug Administration
CB	Celulose bacteriana
ABPA	Associação Brasileira de Proteína Animal
ExPEC	<i>E. coli</i> patogênica extraintestinal
IPEC	<i>E. coli</i> patogênica intestinal
EDTA	Ácido etilenodiaminotetra-acético
OMS	Organização Mundial da Saúde
FSANZ	Food Standards Australia Nova Zelândia
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CBM	Concentração Bactericida Mínima
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
BrCAST	Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
ISO	International Organization for Standardization
UE	União Europeia
CCAH	Comité Científico da Alimentação Humana
JECFA	Peritos em Aditivos Alimentares
CG-EM	Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas
CG-DIC	Cromatografia em fase gasosa acoplada ao detector de ionização em chama
ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Infusão de Cérebro e Coração
CA-SFM	Comitê de Antibiograma de Sociedade Francesa de Microbiologia
BPF	Boas Práticas de Fabricação

LTPA	Laboratório de Tecnologia de Produtos Agropecuários
UVA	Universidade Estadual Vale do Acaraú
CRA	Capacidade de Retenção de Água
PPC	Perda de Peso por Cocção
LABMIC	Laboratório de Microbiologia
SS	<i>Salmonella Shigella</i>
BSA	Bismuth Sulfite Ágar
PCA	Plate Count Ágar
MSR	Metodologia de Superfície de Resposta
BBD	Delineamento Box-Behnken
A	Alginato de sódio e glicerol
AC	Alginato de sódio, glicerol e celulose bacteriana
ACO	Alginato de sódio, glicerol, celulose bacteriana e óleo essencial de <i>S. aromaticum</i>
ANOVA	Análise de Variância
PVA	Permeabilidade ao vapor de água

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	17
2.1	OBJETIVO GERAL .....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	18
3.1	EMBUTIDOS CÁRNEOS .....	18
3.2	MICROORGANISMOS CONTAMINANTES DE EMBUTIDOS CÁRNEOS .....	18
3.3	CONSERVANTES SINTÉTICOS .....	20
3.4	CONSERVANTES NATURAIS .....	21
3.5	ÓLEOS ESSENCIAIS .....	22
<b>3.5.1</b>	<b><i>SYZYGium AROMATICUM</i></b> .....	22
<b>3.5.2</b>	<b><i>ZINGIBER OFFICINALE</i></b> .....	23
3.6	ADIÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM ALIMENTOS .....	24
3.7	FILMES BIOATIVOS .....	25
<b>3.7.1</b>	<b>ALGINATO DE SÓDIO</b> .....	25
<b>3.7.2</b>	<b>GLICEROL</b> .....	26
<b>3.7.3</b>	<b>CELULOSE BACTERIANA</b> .....	27
<b>4</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	29
<b>5</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	30
<b>6</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	31
6.1	ANTIMICROBIANOS NATURAIS .....	32
6.2	MÉTODO PARA ANÁLISE ANTIMICROBIANA <i>IN VITRO</i> .....	38
6.3	FORMAS DE APLICAÇÃO DOS ANTIMICROBIANOS .....	39
6.4	ESTUDO DE ALIMENTOS COM ANTIMICROBIANOS NATURAIS .....	41
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	42
<b>8</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	44
<b>9</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	45
9.1	EXTRAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS .....	45
9.2	ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS .....	45
<b>9.2.1</b>	<b>CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM):</b> .....	45
<b>9.2.2</b>	<b>CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA ACOPLADA AO DETECTOR DE IONIZAÇÃO EM CHAMA (CG-DIC):</b> .....	46
9.3	MÉTODO DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO .....	46
9.4	ELABORAÇÃO DAS LINGUIÇAS .....	47
9.5	ANÁLISE FÍSICA .....	47
9.6	ANÁLISE QUÍMICA .....	48
9.7	ANÁLISE SENSORIAL .....	48
9.8	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA .....	49
9.9	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	49
<b>10</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	49

10.1	COMPOSIÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS .....	49
10.2	CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA E CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA .....	51
10.3	ANÁLISE FÍSICA .....	52
10.4	ANÁLISE QUÍMICA .....	54
10.5	ANÁLISE SENSORIAL .....	55
10.6	ANÁLISE MICROBIOLÓGICA .....	56
<b>11</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>58</b>
<b>12</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>60</b>
<b>13</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>61</b>
13.1	EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL .....	61
13.2	ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL .....	62
<b>13.2.1</b>	<b>CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM): .....</b>	<b>62</b>
<b>13.2.2</b>	<b>CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA ACOPLADA AO DETECTOR DE IONIZAÇÃO EM CHAMA (CG-DIC): .....</b>	<b>62</b>
13.3	CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) .....	63
13.4	CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM) .....	63
13.5	PRODUÇÃO E PURIFICAÇÃO DA CELULOSE BACTERIANA .....	63
13.6	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	64
13.7	PREPARAÇÃO DOS FILMES .....	65
13.8	ENSAIO ANTIMICROBIANO .....	65
13.9	CARACTERIZAÇÃO DOS FILMES .....	66
<b>13.9.1</b>	<b>PERMEABILIDADE AO VAPOR DE ÁGUA (PVA) .....</b>	<b>66</b>
<b>13.9.2</b>	<b>ESPESSURA .....</b>	<b>66</b>
13.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	66
<b>14</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>66</b>
14.1	COMPOSIÇÃO QUÍMICA E RENDIMENTO DO ÓLEO ESSENCIAL.....	66
14.2	CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA E CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA .....	68
14.3	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	69
14.4	ENSAIO ANTIMICROBIANO .....	71
<b>15</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>72</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>73</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) representam um dos grandes problemas de saúde pública, pois são causas frequentes de morbidade e mortalidade, principalmente em crianças menores de cinco anos, pacientes imunocomprometidos e idosos. Uma em cada dez pessoas no mundo adoece depois de consumir alimentos contaminados, levando a mais de 420 mil mortes por ano, sendo a maioria dos casos por doenças diarreicas, em casos mais graves incluem insuficiência renal e hepática, distúrbios cerebrais e neurais, artrite reativa e câncer (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2022).

As DTAs são originadas pelo consumo de água e/ou alimentos contaminados. Os principais microrganismos patogênicos envolvidos em surtos alimentares são bactérias e suas toxinas, vírus e parasitos intestinais oportunistas, além das intoxicações exógenas causadas pela ingestão de substâncias químicas presentes nos alimentos (BRASIL, 2021). Atualmente no mundo existem mais de 250 tipos de DTA, sendo as bactérias as responsáveis por 92,2% dos surtos relacionados à ingestão de alimentos contaminados (BRASIL, 2019a; FORSYTHE, 2013). As bactérias do gênero *Salmonella*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, são citadas como os microrganismos mais envolvidos em surtos de toxi-infecções de origem alimentar (OLIVEIRA, 2021).

O consumo de embutidos cárneos tem apresentado grande expansão nas últimas décadas, por estarem cada vez mais presentes na alimentação da população brasileira, por sua praticidade, facilidade e rapidez no preparo (BALDIN et al., 2016). Sua composição química favorece o crescimento microbiano de patógenos e bactérias deteriorantes, possibilita também o desenvolvimento de processos oxidativos, visto que estes apresentam elevado teor de umidade e gordura, alta atividade de água e pH favorável a essas reações (GOUVÊA et al., 2018).

Como método de prevenção do crescimento microbiano, delongar a oxidação lipídica e para intensificar ou modificar as propriedades sensoriais e aumentar a vida útil dos embutidos, são utilizados aditivos sintéticos, como nitrato e nitrito de sódio e de potássio (JACOBSEN et al., 2019). Mesmo com a utilização de aditivos sintéticos, os embutidos ainda estão entre os alimentos que mais causam toxi-infecções de origem alimentar, além do mais o uso excessivo de nitrito é capaz de produzir compostos responsáveis por efeitos carcinogênicos em humanos (ASHWORTH et al., 2020). Dentre os alimentos embutidos, destacam-se principalmente as linguiças, por apresentarem sabor característico e preço acessível (NASCIMENTO et al., 2012).

Embalagem produzidas com compostos naturais bioativos, que utilizam em sua composição substâncias de interesse como: agentes antimicrobianos, antioxidantes e/ou antifúngicos, além de atribuir várias propriedades funcionais, tais como, aumento da atividade microbiana, melhoria mecânica, térmica e de propriedade de barreira, são consideradas promissoras para utilização em alimentos, a fim de preservar e estender sua vida útil (MOSTAFAVI; ZAEIM, 2020; ZHAO et al., 2023).

Estudos com produtos naturais tem despertado o interesse dos pesquisadores e das indústrias alimentícias, pela necessidade de produzir alimentos com menos conservantes sintéticos, propriedades organolépticas preservadas, ausentes de microrganismos patogênicos e que atenda à procura dos consumidores por alimentos saudáveis (BARROS et al., 2020). Uma grande variedade de plantas utilizadas na culinária, apresentam substâncias aromáticas ou de sabor forte, usadas para realçar o gosto aos alimentos, as quais também são atribuídas potencial conservante (GERMANO; GERMANO, 1998).

Os óleos essenciais são compostos químicos obtidos a partir de plantas aromáticas e caracterizam-se como misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, com baixo peso molecular, apresentam propriedades antifúngicas (CARVALHO et al., 2023), inseticidas (SOARES et al., 2023), antimicrobianas e antioxidantes (OLIVEIRA et al., 2022) dentre outras. O óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia), mostra alto potencial antimicrobiano e antioxidante, atribuído a presença de seus compostos fenólicos a exemplo do eugenol, seu principal constituinte bioativo, estudo relata seu uso na preservação de produtos cárneos (NIKMARAM et al., 2018). Já o óleo essencial de *Zingiber officinale* (gengibre) apresenta o geranial e  $\alpha$ -zingibereno como seus principais compostos químicos, associados a uma série de benefícios para a saúde, devido às suas várias propriedades biológicas, como atividades antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias (SIMON-BROWN et al., 2016). Neste contexto, a utilização de óleos essenciais, como uma alternativa para substituição aos aditivos químicos, tem ganhado mais atenção. A atividade antimicrobiana de óleos essenciais mostra a viabilidade destes para muitas aplicações, inclusive conservação de alimentos (MARTUCCI et al., 2015).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Verificar a ação dos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Zingiber officinale* como conservantes naturais na produção e armazenamento de linguiça toscana.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Avaliar a atividade antibacteriana dos óleos essenciais *S. aromaticum* e *Z. officinale* frente a cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp.
- Avaliar a qualidade microbiológica, sensoriais e físico-química de linguiça toscana produzida com adição de óleo essencial de *S. aromaticum* e *Z. officinale*.
- Produzir filme ativo de alginato de sódio e celulose bacteriana, incorporado com óleo essencial de *Syzygium aromaticum* para aplicação em embutidos cárneos.

### **3 REFERENCIAL TEÓRICO**

#### **3.1 Embutidos cárneos**

O Brasil é um grande produtor e consumidor de proteína de origem animal e destina a maior parte de sua produção ao mercado interno. De acordo com a Associação Brasileira de Proteína Animal (2021), 98,5% dos lares brasileiros consomem algum tipo de carne ou derivados. A carne e os produtos cárneos são considerados alimentos ricos em proteínas de alta qualidade, vitaminas B12, ferro, gorduras, zinco e selênio, sendo importantes fontes de nutrientes para os seres humanos (GODFRAY et al., 2018; HUANG et al., 2022).

Devido ao seu alto valor nutricional e teor de água, tornam-se altamente perecíveis, como alternativa para aumentar a vida de prateleira das carnes, são elaborados os derivados cárneos, produtos desenvolvidos a partir de carne, miúdos ou de partes comestíveis de animais, cujas características são alteradas através de tratamentos físicos, químicos ou biológicos, podendo envolver o acréscimo de conservantes sintéticos. Entre os derivados cárneos mais consumidos, destacam-se os embutidos, definidos pela legislação brasileira como produtos elaborados a partir de carnes ou órgãos comestíveis, que podem ser curados ou não, condimentados, cozidos ou não, defumados e dessecados ou não, contendo envoltório, que pode ser de origem natural ou artificial (BRASIL, 2017).

A linguiça é um dos produtos cárneos embutidos mais produzidos no Brasil, visto seu índice de aceitação e venda, são capazes de corresponder às expectativas da população em relação aos novos hábitos alimentares, a praticidade no preparo torna-se sua principal vantagem (CARVALHO et al., 2010; TRENTINI; MACEDO, 2019). Dessa forma estão se tornando cada vez mais presentes na dieta alimentar da população brasileira. Aquisição domiciliar *per capita* anual dos brasileiros para linguiça é de 2,15 kg (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2020). No entanto, o consumo excessivo desses alimentos pode ser prejudicial à saúde, considerando o elevado teor de conservantes utilizados na preparação dos embutidos (SILVA; GOMES; MOREIRA, 2022). Outro fator é a contaminação por microrganismos patogênicos e deteriorantes, alterando a qualidade, como sabor, cor, textura e valor nutricional (NOOR et al., 2018; AMANI; SARKODIE, 2022).

#### **3.2 Microrganismos contaminantes de embutidos cárneos**

Nos últimos anos as contaminações microbianas dos alimentos vêm crescendo bastante, com tantos surtos alimentares, gerando preocupação nas autoridades de saúde e nos

profissionais da área da alimentação, quanto à qualidade e segurança alimentar, pois estas contaminações geram graves intoxicações, podendo levar o indivíduo a óbito (JORGE, BARBOSA; BUCCIOLI, 2019). As falhas de boas práticas de fabricação, que ocorram em qualquer etapa do processamento, podem resultar em contaminação por microrganismos patogênicos e deteriorantes, sendo necessário rigoroso controle em toda a cadeia produtiva (DEMAÎTRE et al., 2020).

Uma série de práticas físicas e/ou químicas tem sido amplamente utilizada pela indústria, para garantir a segurança dos alimentos. No entanto, os métodos físicos e químicos podem alterar a qualidade dos alimentos (YUAN et al., 2019). Mesmo com o desenvolvimento de várias técnicas de conservação dos alimentos, a contaminação desses produtos ainda ocasiona muitas ocorrências de DTAs, o que vêm aumentando gradativamente (MACWAN et al., 2016). As bactérias *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, são citados como os microrganismos mais envolvidos em surtos de toxinfecções alimentares, esses se encontram uma ampla gama alimentos, incluindo os produtos cárneos (KENNY, 2013).

A *E. coli* é uma bactéria Gram-negativa em forma de bastonete, pertencente à família Enterobacteriaceae, anaeróbia predominantemente facultativa que coloniza o trato gastrointestinal humano (CHAUDHURI; HENDERSON, 2012). As cepas de *E. coli* são classificadas – de acordo com critérios genéticos e clínicos. Cepas comensais não patogênicas, encontradas no intestino humano e animal, além das cepas causadoras de uma série de doenças. São capazes de causar infecções extraintestinais, designadas como *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC) e cepas causadoras de doenças intestinais, denominadas como *E. coli* patogênica intestinal (IPEC) (LINDSTEDT et al., 2018). A *E. coli* O157:H7 tem sido associada a surtos de doenças transmitidas por alimentos como carne mal cozida, leite não pasteurizado e suco de maçã, iogurte, queijo, água e saladas frescas (SOUZA, 2006).

O *Staphylococcus aureus* é um microrganismo Gram-positivo, da família Micrococcaceae, não esporulado, coagulase positiva, anaeróbio facultativo e patógeno humano. Habitat no meio ambiente e grande parte nos humanos, de maneira comensal/benigna, nas mãos, mucosa e flora nasal (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). É um dos agentes mais comuns em surtos de intoxicação alimentar, que ocorre após a ingestão de alimentos contendo enterotoxinas, formadas durante o crescimento de *S. aureus*. Sob as condições certas, as enterotoxinas são formadas e secretadas principalmente durante a fase de crescimento exponencial tardio, ocasionando a intoxicação alimentar (SCHELIN et al., 2011). Os produtos

cárneos, entre eles as linguiças, são excelentes meios para promover o crescimento de *S. aureus*, portanto são comumente associadas a gastroenterites causadas por enterotoxinas estafilocócica (ANANOUE et al., 2005; MOHANTY; MOHAPAIRA; PAL, 2018).

*Salmonella* é um gênero pertencente à família Enterobacteriaceae, tem formato de bastonete, Gram-negativo, não esporulada, anaeróbios facultativos, produzem gás a partir da glicose, podem crescer em temperatura entre 5 °C e 38 °C, os animais e os homens seus principais reservatórios naturais. As espécies do gênero *Salmonella* são, em sua maioria, patogênicas, e podem provocar doenças como salmonelose ou gastroenterite (TORTORA; FUNKE; CASE, 2017). Visto sua alta patogenicidade a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina, pela IN n° 60 de 2019, ausência de *Salmonella* em 25 g de alimento (BRASIL, 2019b). As bactérias grupo de *Salmonella* são os principais patógenos causadores de doenças de origem alimentar em vários países, têm sua transmissão relacionada principalmente a produtos cárneos, frutas e hortaliças (SILVA et al., 2016).

### 3.3 Conservantes sintéticos

Os conservantes sintéticos são substâncias químicas introduzidas em alimentos para desempenhar funções específicas, como, manutenção da qualidade e evitar a deterioração, prolongando a vida útil, inibindo e controlando o crescimento bacteriano ou reações químicas durante o armazenamento dos alimentos e melhorando assim, suas propriedades organolépticas, sendo, portanto, essenciais na maioria dos produtos cárneos processados (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2018; GONÇALVES; LORENZO; TRINDADE, 2021).

Apesar de sua necessidade em vários produtos alimentícios, os conservantes sintéticos têm recebido uma resposta negativa dos consumidores, pois seu consumo exacerbado pode causar sérios riscos à saúde do consumidor. Os nitritos e nitratos são sais de cura bastante utilizados como conservantes de embutidos cárneos, sua aplicação proporciona alterações sensoriais, como: cor, sabor e textura, além da segurança microbiológica. Entre os principais efeitos do nitrito estão a extensão da vida útil e inibição da oxidação lipídica (HAMDI, 2018; MAJOU; CHRISTIEANS, 2018).

A ingestão de carne processada acarreta vários riscos ao consumidor, devido a presença de nitritos. O nitrito presente na carne sofre diferentes destinos, pode reagir com aminas e amidas na carne durante o tratamento térmico e armazenamento, formando compostos N-nitroso, que são cancerígenos para os seres humanos (ASHWORTH et al., 2020), pode oxidar

o ferro ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) em hemoglobina para ferro férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ), gerando distúrbio sanguíneo (FAN; WILLHITE; BOOK, 1987). Também estão associados ao surgimento de neoplasias gastrointestinais (RIBEIRO, 2019a), ligados a defeitos congênitos em bebês e abortos espontâneos em grávidas (SEPAHVAND; GHASEMI; HOSSEINI, 2021).

Em virtude da preocupação com os conservantes sintéticos, em relação a saúde da população, a ANVISA estabelece um limite para utilização nos alimentos, sendo o limite máximo de nitrito de sódio e nitrito de potássio de 0,015g/100g de produto e nitrato de sódio e nitrato de potássio de 0,030g/100g de produto (BRASIL, 2019c). É de interesse tanto dos consumidores quanto dos produtores que alternativas mais saudáveis aos produtos tradicionais sejam produzidas, exigem alternativas mais seguras, principalmente com ingredientes naturais, que atendam padrões de segurança alimentar semelhantes (WANG et al., 2018a).

### **3.4 Conservantes naturais**

Os antimicrobianos naturais são compostos obtidos de plantas, animais e microrganismos que tem potencial de prolongar a vida útil de produtos alimentícios (PISOSCHI et al., 2018). Conseguem reduzir ou mesmo eliminar organismos patogênicos presentes nos alimentos, aumentando a qualidade dos mesmos, além de atuarem como antimicrobianos, também têm potencial antioxidante (BURT, 2004).

A utilização de compostos naturais com efeitos conservantes está ganhando cada vez mais popularidade e aceitação pelos consumidores, devido aos benefícios associados à saúde, questões ambientais e preferência por produtos minimamente processados/naturais. Esses compostos são classificados em Geralmente Reconhecido como Seguro (GRAS) e usados desde os tempos antigos na indústria de alimentos, para melhorar o sabor, aparência e aroma (JIDEANI et al., 2021).

As substâncias naturais parecem ser uma alternativa interessante, aos conservantes sintéticos, vista as dificuldades das indústrias em manter simultaneamente a segurança, estabilidade de seus produtos e seguir os padrões determinados pela ANVISA, o mercado procura alternativas por meio da pesquisa e do desenvolvimento de novos conservantes à fim de inclui-los aos seus produtos (OSTROSKY et al., 2011).

### 3.5 Óleos essenciais

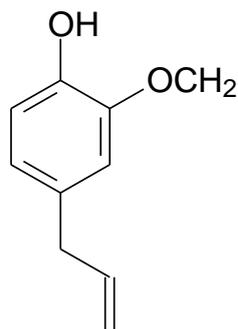
Dentre os produtos naturais, os óleos essenciais (OEs), destacam-se, pois são amplamente aceitos e seus componentes vêm ganhando interesse como aditivos alimentares. Os OEs são líquidos voláteis e aromáticos derivados de plantas. Possuem vários componentes químicos bioativos como terpenos, terpenóides, fenilpropenos e fenólicos, presentes em várias partes das plantas, folhas, caules, flores, raízes, casca etc. (VOON, BHAT; RUSUL, 2012; TARIQ et al., 2019), que apresentam diversas atividades biológicas, incluindo antimicrobianas, antioxidantes e anti-inflamatórias (SHAABAN, 2020; BADR; BADAWY; TAKTAK, 2022).

Os OEs desenvolvem diferentes mecanismos de ação para retardar as reações de oxidação, e atividade antimicrobiana (RODRIGUEZ-GARCIA et al., 2016). Provocam danos estruturais e funcionais nas células microbianas, atuam preferencialmente na bicamada lipídica da membrana citoplasmática, por ruptura e permeabilidade da membrana e do equilíbrio osmótico da célula. Dessa forma, interrompem o transporte de íons e interagem com proteínas e outros componentes celulares (GILL; HOLLEY, 2004).

#### 3.5.1 *Syzygium aromaticum*

A espécie *Syzygium aromaticum* é popularmente conhecido como cravo-da-índia, pertencente à família das Mirtáceas, uma espécie de porte arbóreo, que pode atingir, em média, de 8 a 10 metros de altura (AFFONSO et al., 2012). Planta bastante utilizada na culinária, por apresentar aroma e sabor marcante, devido à presença do eugenol. O chá dos botões florais é usado medicinalmente para tratar problemas respiratórios e transtornos alimentares, também como enxaguantes bucais e durante a escovação para limpeza dental, visto suas propriedades antissépticas (COSTA, 2011).

Os principais compostos químicos presentes no óleo essencial de cravo-da-índia, são eugenol, acetato de eugenila,  $\beta$ -cariofileno e  $\alpha$ -humuleno. Sendo o eugenol (Figura 1), classificado como o composto majoritário, correspondendo a pelo menos 50% do total. (BAKRY et al., 2019; EL-SABER BATIHA et al., 2020).

**Figura 1 - Estrutura química do eugenol**

Fonte: Elaborada pelo autor.

O eugenol é um composto aromático pertencente ao grupo dos fenóis, moderadamente solúvel em água e bem solúvel em solventes orgânicos. Apresenta várias propriedades antioxidantes, analgésicas, antimutagênicas, antialérgicas, antimicrobiana e anti-inflamatórias (ULANOWSKA; OLAS, 2021). Tem potencial antibacteriano frente a várias cepas Gram-negativas (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella choleraesuis*) e Gram-positivas (*S. aureus*, *Streptococcus pneumonia* e *Enterococcus faecalis*) (NISAR et al., 2021). O eugenol é um composto GRAS, bastante utilizado na indústria de perfume e alimentos (SARTORATTO et al., 2004).

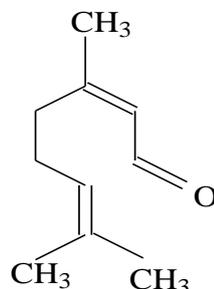
### 3.5.2 *Zingiber officinale*

O *Zingiber officinale* é conhecido como gengibre, pertencente à família Zingiberácea, uma planta herbácea, composta por rizomas rastejantes horizontais ou tuberosos, que formam estruturas espessas lobuladas, ramificadas com articulações tuberosas. Originou-se no Sudeste Asiático e tornou-se uma cultura comercial no Brasil, principalmente nos estados de São Paulo e Paraná (MOGHADDASI; KASHANI, 2012; PREEDY, 2015). O gengibre apresenta várias propriedades medicinais, sendo amplamente comercializado para combater resfriado, gripe, dor muscular e melhorar problemas digestivos (BARBOSA et al., 2007; NICÁCIO et al., 2018). Além de ser usado na alimentação, fabricação de bebidas, cosméticos e produção de medicamentos (CZERNICKA et al., 2020).

Os compostos mais abundantes no óleo essencial de gengibre são os monoterpenos [geranial (Figura 2), acetato de geranila e geraniol] e sesquiterpenos (zingiberenos) (GONG et al., 2004). No entanto, a composição do óleo essencial depende do cultivo do gengibre, podendo variar de acordo com a área de cultivo e a fase de maturação do rizoma. Os níveis de geranial

aumentam drasticamente durante a maturação e armazenamento dos rizomas (IIJIMA et al., 2014).

**Figura 2 - Estrutura química do geranial**



Fonte: Elaborada pelo autor.

O geranial contribui para o aroma fresco e cítrico de gengibre, este foi relatado como seu composto de aroma mais olfativo. O geranial também apresenta propriedades bioativas como anti-inflamatório, antitumoral, atividades antibacteriana e antifúngica (LIMA et al., 2021).

### **3.6 Adição de óleos essenciais em alimentos**

A aplicação dos óleos essenciais em alimentos tem ganhado destaque, por realizar o controle microbiano, uma vez que reduz o uso de aditivos, controla a contaminação dos alimentos contra patógenos e deteriorantes e proporciona aumento da vida de prateleira (TAJKARIMI; IBRAHIM; CLIVER, 2010). Podem ser aplicados de diferentes maneiras, como, aplicação direta como ingrediente da fórmula, embalagens que o compõe com ação de componente ativo e funcional e também como revestimentos comestíveis (JU et al., 2018; JU et al., 2019).

Os óleos essenciais têm sido amplamente utilizados, em produtos alimentícios, devido suas propriedades antibacterianas, antifúngicas e antioxidantes (VIUDA-MARTOS et al., 2009), também como aromatizantes. Sua principal vantagem é que eles podem ser usados em qualquer alimento e são GRAS (FDA, 2019), desde que seu potencial seja alcançado com a mínima alteração nas propriedades organolépticas do alimento (VIUDA-MARTOS et al., 2008).

A utilização de óleos essenciais como alternativa aos conservantes tem sido estudada, e é aplicável para prevenir doenças e aumentar a vida útil de alimentos (POMBO et al., 2018). Portanto, pela capacidade já estudada de inibir o crescimento microbiano dos óleos essenciais, os mesmos tornam-se uma opção interessante, sendo semelhante aos conservantes químicos,

em relação a eficácia e mais seguros (DIAS et al., 2021). Outra vantagem é que microrganismos associados a alimentos expostos a óleo essenciais geralmente não reduzem a suscetibilidade a antimicrobiana e processos físicos usados na conservação de alimentos ou aumentam a resistência a antibióticos (SOUZA, 2016). A adição de óleo essencial é compatível com a maioria dos alimentos, e a Food and Drug Administration (FDA) estabeleceu uma lista de GRAS, incluindo cravo, orégano, manjerição, tomilho e canela (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2019).

### **3.7 Filmes bioativos**

Filmes são embalagens de espessura fina, preparados utilizando moléculas biológicas, que envolvem produtos, protegendo-os e aumentando sua vida útil. Elaborados a partir de polissacarídeos, proteínas, lipídios ou a combinação destes compostos, melhorando a flexibilidade, força e resistência dos filmes, fazendo o uso de plastificantes, como o glicerol e o sorbitol (MOSTAFAVI; ZAEIM, 2020; ZHAO et al., 2023).

O desenvolvimento de embalagens à base de polímeros e fontes renováveis tornou-se uma importante linha de pesquisa na área de alimentos. Esses filmes podem transportar compostos naturais com propriedades físico-químicas e bioativas, que os tornam utilizáveis para desenvolver filmes inteligentes e ativos (OLIVEIRA FILHO et al., 2021). Os filmes ativos contêm agentes com propriedades como (antioxidantes, antifúngicas e antimicrobianas), que interagem com o alimento visando, proteger, prolongar a vida útil e preservar suas características sensoriais (UMARAW et al., 2020).

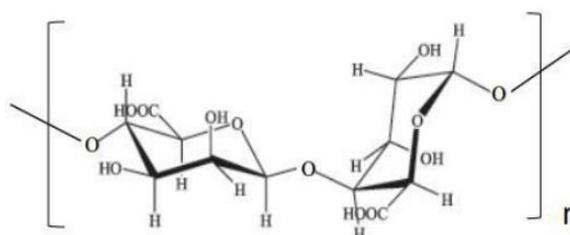
As embalagens ativas têm sido uma opção atraente para a indústria de alimentos nas últimas décadas. Pois, filmes produzidos com polímeros comestíveis combinados com antimicrobianos naturais, podem prevenir e até mesmo controlar surtos causados por microrganismos patógenos, melhorando assim, a qualidade e segurança dos itens embalados. Espera-se que a demanda por embalagens biodegradáveis e ativas atinja altos níveis no mercado de alimentos em todo o mundo (BRABER et al., 2020; HOSSEINI; GHADERI; G'OMEZ-GUILL'EM, 2021).

#### **3.7.1 Alginato de sódio**

O alginato sódio (Figura 3) é um polissacarídeo, geralmente extraído de algas marrons pertencentes à classe filogenética Phaeophyceae ou obtido por cultura microbiana (SERRANO-

AROCA; RUIZ-PIVIDAL; LLORENS-GÁMEZ, 2017). Existem vários tipos de alginato com diferentes massas moleculares e proporções entre grupos D-manurônicos e L-gulurônicos, também podem ser quimicamente modificados, o que lhe conferem uma ampla gama de propriedades diferentes. É um biopolímero aprovado pela Food and Drug Administration (FDA) dos Estados Unidos para utilização em determinadas aplicações biomédicas. Além disso, sua forte solubilidade em água os torna popular nos setores farmacêutico e alimentício (LEE; MOONEY, 2012; SALAMA; AZIZ; SABAA, 2018).

**Figura 3 - Estrutura do alginato de sódio**

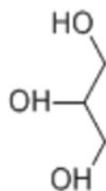


Fonte: Lee e Mooney, (2012)

Apresenta grande potencial para uso como filme e revestimento de alimentos devido à sua atoxicidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, propriedades químicas e físicas versáteis, e por ser um material renovável (BILBAO-SAINZ et al., 2018). Uma desvantagem desse biopolímero é a dificuldade em atender às propriedades antioxidantes e antimicrobianas das embalagens de alimentos. Portanto, para superar essas limitações, a adição de compostos bioativos, como óleos essenciais, é uma abordagem eficaz (LU et al., 2021).

### 3.7.2 Glicerol

O glicerol (Figura 4) é dos principais subprodutos gerados durante a produção de biodiesel, uma matéria prima renovável, utilizada como plastificante na produção de filmes biodegradáveis, promove alterações significativas de suas propriedades e, assim, garante uma ampla faixa de aplicação (BAGNATO et al., 2017; GONÇALVES et al., 2019). Para a aplicação em filmes é necessário determinar a concentração adequada, pois quando adicionado em concentração baixa gera um efeito chamado antiplastificante, onde o plastificante não interage com a matriz polimérica o suficiente para aumentar a mobilidade molecular, causando a redução da flexibilidade e hidrofobicidade. Já a adição excessiva do plastificante causa a sua migração deixando a superfície do filme pegajosa, tornando a aplicação difícil (CHANG, KARIM; SEOW, 2016; ECHEVERRÍA et al., 2016).

**Figura 4 - Estrutura química do glicerol**

Fonte: Monteiro et al., 2018

Entre os plastificantes, o glicerol é um dos mais utilizados em biopolímeros, pois tem a possibilidade de ser utilizado para diferentes aplicações, baseado nas suas qualidades físicas e químicas, que incluem: baixa volatilidade, higroscopicidade, efeito plastificante, promove flexibilidade, solubilidade, estabilidade, elevada viscosidade e é considerado não-tóxico (AZEREDO, 2012; GONÇALVES et al., 2019).

### 3.7.3 Celulose bacteriana

A celulose bacteriana (CB) é um biopolímero constituído de cadeias lineares de resíduos de glicose ligados covalentemente entre os carbonos 1 e 4 ( $\beta$ 1–4), denominadas microfibrilas (ALTANER et al., 2014). A CB pode ser produzida por várias espécies bacterianas, incluindo bactérias Gram-negativas como *Acetobacter*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Alcaligenes*, e também Gram-positivas como *Sarcina ventriculi* (MOHAMMADKAZEMI, AZIN, ASHORI, 2015; LIN et al., 2020)

Possui muitas vantagens em relação a celulose vegetal, incluindo, não toxicidade, não alergenidade, alta cristalinidade e pureza com ausência de lignina ou hemiceluloses, elasticidade, baixa densidade, alta resistência mecânica e à tração, biocompatibilidade, elevada área superficial, boa transparência e maior capacidade de retenção de água (PAXIMADA et al., 2016; LIMA et al., 2021). Tais propriedades possibilitam a aplicação em alimentos, cosméticos, fármacos, entre outros. A CB é considerada GRAS pela FDA dos EUA (SHI et al., 2014).

A BC apresenta grande potencial para aplicação como embalagens. Visto que, é compatível com vários tipos de alimentos. Os filmes produzidos com CB reduzem consideravelmente a perda de umidade, são de fácil controle da permeabilidade do vapor de água e gás (O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>), aumentam a resistência mecânica, possuem propriedades de superfície e barreira adaptadas, que exibem um aumento da hidrofobicidade. Além disso, os filmes modificados apresentam propriedades de barreira de controle do vapor de água em diferentes umidades relativas, tais como nitrogênio, oxigênio e dióxido de carbono umedecidos (TOMÉ et al., 2010; WANG et al., 2018b).

## ANTIMICROBIANOS NATURAIS APLICADOS EM ALIMENTOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

### RESUMO

A utilização de conservantes sintéticos é um dos principais métodos utilizados para prevenção do crescimento microbiano, delongar a oxidação lipídica e aumentar a vida útil dos alimentos. Porém a ingestão destes compostos em quantidades elevadas pode ser responsável por efeitos carcinogênicos em humanos. Devido ao impacto negativo dos conservantes sintéticos na saúde dos consumidores a demanda por alimentos mais saudáveis, têm gerado interesse em estudar os antimicrobianos naturais, como uma alternativa aos conservantes sintéticos. O estudo objetivou elaborar uma revisão sistemática sobre antimicrobianos naturais utilizados na conservação de alimentos. A pesquisa foi desenvolvida utilizando as bases de dados *PubMed*, *Scopus*, *Science Direct* e *Web of Science*, usando como palavras-chave "natural antimicrobial" AND "food", os critérios de inclusão foram: antimicrobianos naturais utilizados, origem dos antimicrobianos, método de avaliação antimicrobiana *in vitro*, formas de aplicação dos antimicrobianos nos alimentos e os alimentos mais utilizados nas pesquisas desenvolvidas de 2017 a 2020. Foram analisados 236 artigos, destes 50,43% foram encontrados na base de dados *Science Direct*. Os resultados mostram que os antimicrobianos naturais mais estudados são de origem vegetal, com 89,40%, em destaque para os óleos essenciais 29,85%, o método mais utilizado para teste *in vitro* foi a microdiluição em caldo. Em relação às formas de aplicação dos antimicrobianos nos alimentos, a aplicação direta do aditivo com 47,45% foi a mais estudada, os alimentos mais utilizados foram os produtos cárneos. Conclui-se que há uma grande variedade de estudos utilizando os antimicrobianos naturais como conservante, sendo, portanto, uma alternativa promissora para substituir os aditivos sintéticos.

**Palavras-chave:** Antimicrobianos vegetais; Óleos essenciais; Revestimento; Produtos cárneos.

### ABSTRACT

The use of synthetic preservatives is one of the main methods used to prevent microbial growth, delay lipid oxidation and increase the shelf life of foods. However, ingestion of these compounds in high quantities may be responsible for carcinogenic effects in humans. Due to the negative impact of synthetic preservatives on consumer health, the demand for healthier foods has generated interest in studying natural antimicrobials as an alternative to synthetic preservatives. The study aimed to develop a systematic review on natural antimicrobials used in food preservation. The research was developed using the databases *PubMed*, *Scopus*, *Science*

*Direct* and *Web of Science*, using as keywords "natural antimicrobial" AND "food", the inclusion criteria were: natural antimicrobials used, origin of the antimicrobials, method of in vitro antimicrobial evaluation, ways of applying antimicrobials in food and the foods most used in research carried out from 2017 to 2020. 236 articles were analyzed, of which 50.43% were found in the *Science Direct* database. The results show that the most studied natural antimicrobials are of vegetable origin, with 89.40%, especially essential oils 29.85%, the most used method for in vitro testing was microdilution in broth. Regarding the ways of applying antimicrobials to food, the direct application of the additive with 47.45% was the most studied, the most used foods were meat products. It is concluded that there is a wide variety of studies using natural antimicrobials as preservatives, therefore being a promising alternative to replace synthetic additives.

**Keywords:** Plant antimicrobials; Essential oils; Coating; Meat products.

#### 4 INTRODUÇÃO

As Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) são reconhecidas como um grande e crescente problema de saúde pública e econômico em vários países (HOFFMANN; SCALLAN, 2017). A contaminação e deterioração dos alimentos é um fator preocupante, uma vez que o crescimento e a produção de toxinas por microrganismos patogênicos podem causar graves doenças de origem alimentar e perda econômica (CHEN et al., 2015; FOOD SAFETY AND INSPECTION, 2016). Os microrganismos *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* são os dois principais patógenos de origem alimentar (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2014).

Mesmo com a aplicação de várias técnicas de preservação de alimentos, a proliferação microbiana e a produção de metabólitos ainda são causas frequentes de intoxicações de origem alimentar (GONELIMALI et al., 2018; QUINTO et al., 2019). A utilização de aditivos sintéticos como, nitrato e nitrito de sódio e de potássio é um dos principais métodos utilizados para prevenção do crescimento microbiano, delongar a oxidação lipídica, intensificar ou modificar as propriedades sensoriais e aumentar a vida útil dos alimentos (OLATUNDE; BENJAKUL, 2018; FLORES; TOLDRÁ, 2021). Além do mais, o uso excessivo de nitrito é capaz de produzir compostos responsáveis por efeitos carcinogênicos em humanos, dessa forma existe uma preocupação dos consumidores quanto ao risco do uso de aditivos sintéticos para a

saúde, o que levou à diminuição do uso desses produtos químicos na preservação de alimentos (CALEJA et al., 2016; KALEM et al., 2017).

Devido ao potencial impacto negativo dos conservantes sintéticos na saúde e a demanda dos consumidores por alimentos nutritivos e minimamente processados, têm gerado interesse e pressionado os pesquisadores para estudarem conservantes alternativos, visando à obtenção de alimentos seguros e saudáveis, dessa forma a utilização de compostos antimicrobianos naturais em alimentos adquiriu grande atenção dos consumidores e da indústria alimentícia (GARCÍA-GARCÍA; SEARLE, 2016; JOHNSON et al., 2018).

Os antimicrobianos naturais são substâncias adicionadas a um produto com o propósito de evitar alterações indesejáveis durante o armazenamento, transporte, distribuição, varejo e consumo, protegendo-o de bactérias, fungos, leveduras e quaisquer tipos de organismos ou reações químicas que possam tornar o alimento impróprio para o consumo (PEZESHK; OJAGH; ALISHAHI, 2015; SANTURIO et al., 2019). Antimicrobianos naturais garantem a segurança alimentar em uma nova perspectiva, a partir da incorporação direta ou em forma de embalagem, em diversos alimentos de origens distintas, conferindo, melhor qualidade e prolongamento do prazo de validade (PISOSCHI et al., 2018; AZIZ; KARBOUNE, 2018). Diante do exposto, o presente estudo objetivou elaborar uma revisão sistemática sobre antimicrobianos naturais utilizados na conservação de alimentos.

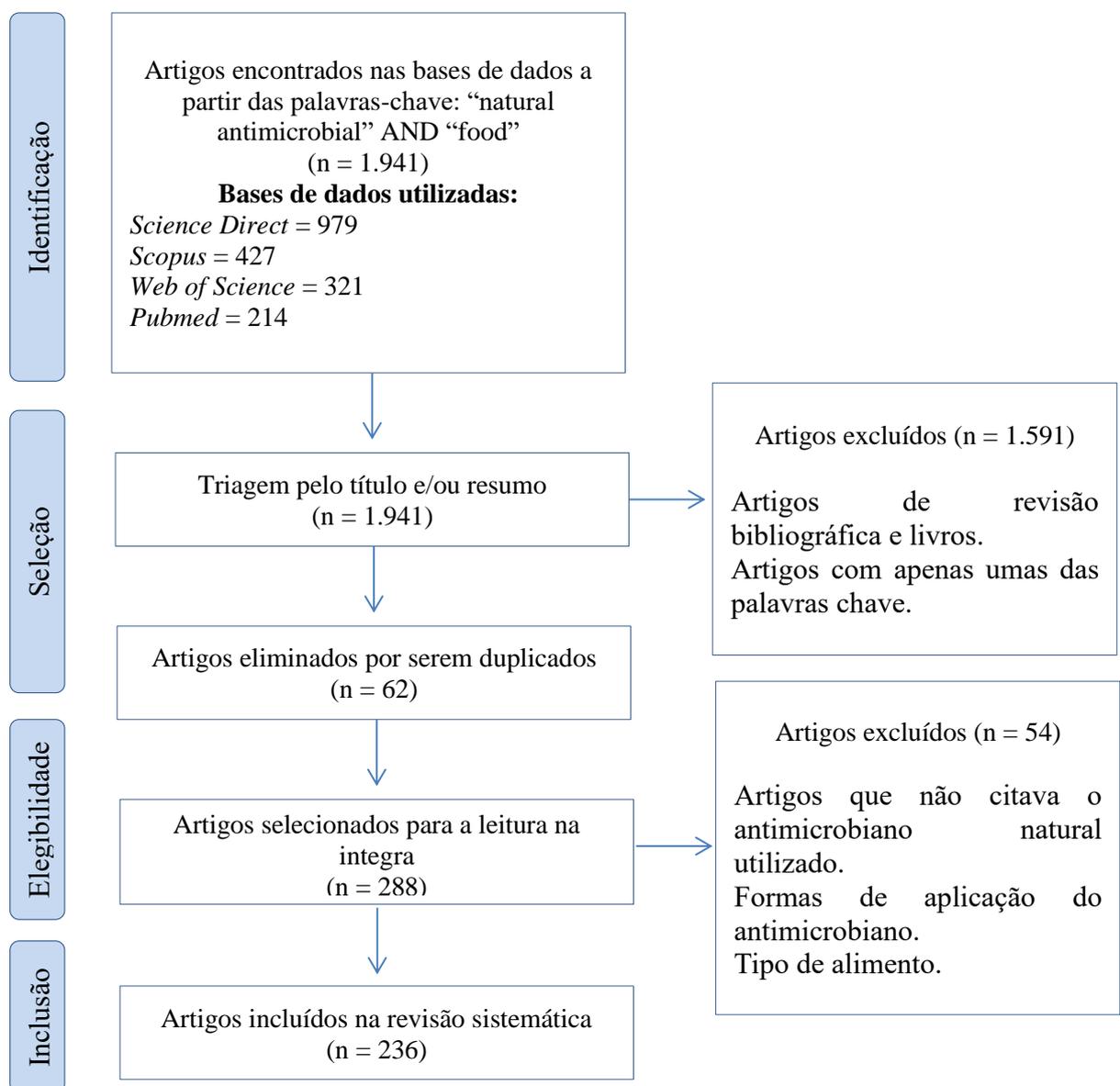
## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

Uma pesquisa eletrônica foi realizada utilizando as bases de dados *PubMed*, *Scopus*, *Science Direct* e *Web of Science*, com as combinações de termos de pesquisa: "natural antimicrobial" AND "food", seguindo os processos e organização indicado no protocolo Prisma. Os critérios de inclusão utilizados para a busca pelos estudos incluem artigos publicados entre os anos de 2017 a 2020, apenas em inglês. Após a pesquisa eletrônica foi realizada uma triagem para selecionar os artigos que abordassem a temática: Os antimicrobianos naturais utilizados, origem dos antimicrobianos, métodos antimicrobianos *in vitro*, formas de aplicação dos antimicrobianos nos alimentos e alimentos utilizados na pesquisa. As características utilizadas para exclusão de artigos foram: Artigos de revisão bibliográfica, livros, resumos simples ou expandido publicados em congressos, artigos relatando apenas atividades *in vitro*, trabalhos escritos em outros idiomas que não inglês e estudos publicados a mais de quatro anos.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foram identificados 1.941 artigos. Sendo 214 encontrados na *PubMed*, 427 *Scopus*, 321 *Web of Science* e 979 *Science Direct*, evidenciando que 50,43% dos artigos identificados com esse tema estão presentes na base de dados *Science Direct*, esse fator pode ser explicado devido ao grande número de revistas indexadas nesta plataforma, principalmente, periódicos com escopo adequado para a publicação de artigos da presente temática (Figura 5).

**Figura 5 - Fluxograma da estratégia abordada para a seleção dos artigos.**



Fonte: Elaborada pelo autor.

Dos 1.941 artigos encontrados, após a leitura dos títulos e resumos, observou-se que 350 se encaixam no assunto em estudo. Após a remoção das duplicadas, ou seja, artigo que estão disponíveis em duas ou mais bases de dados, restaram 288, esses foram selecionados para leitura do texto na íntegra, após esse processo foram excluídos 52 artigos por não se encaixarem nos critérios de inclusão, sendo selecionados 236 artigos.

## **6.1 Antimicrobianos naturais**

Os antimicrobianos são compostos ou substâncias que agem como conservantes, desacelerando a decomposição microbiana dos alimentos, inibindo o crescimento de microrganismos pelo processo de inativação (NIAZ et al., 2019). A natureza é composta pela mais rica fonte de moléculas, com inúmeras propriedades biológicas. Devido à sua ampla biodiversidade, caracteriza-se como a maior biblioteca de compostos que já existiu. Muitas dessas moléculas exibem atividade antimicrobiana e têm estruturas químicas distintas (GHIRGA et al., 2017; BARBOSA et al., 2020). Essas fontes naturais têm sido intensamente estudadas para uso potencial como bioconservantes alimentares (BONDI et al., 2017), como plantas, animais, bactérias, algas e fungos (HORITA et al., 2018; QUINTO et al., 2019).

Dos 236 artigos analisados 89,40% (211) utilizaram antimicrobianos de origem vegetal, 22,88% (54) microbiana e 14,40% (34) animal, alguns trabalhos combinaram antimicrobianos de duas ou mais origens. O estudo relata que a fonte vegetal foi a mais empregada em pesquisas, provavelmente, pelo fato de os antimicrobianos oriundos de plantas já serem usados desde o passado como conservantes e/ou agentes aromatizantes, para aumentar as características organolépticas dos alimentos. As plantas possuem compostos fitoquímicos que são considerados seguros, em virtude da ausência de efeitos colaterais durante o uso histórico e baseado em pesquisas toxicológicas (PILEVAR et al., 2020).

Alguns dos principais antimicrobianos considerados para o desenvolvimento de conservantes naturais são classificados de acordo com sua origem: vegetal (óleos essenciais e extratos), animal (quitosana) e microbiana (bacteriocinas) (GOKOGLU, 2019; INANLI et al., 2020; BAGHERI DARVISH et al., 2021). Os antimicrobianos de origem animal que se apresentaram de forma mais expressiva nos 34 trabalhos desenvolvidos foram, quitosana 74,28% (26), lactoferrina 5,88% (2) e lisozima 5,88% (2). A quitosana é um polissacarídeo proveniente da desacetilação da quitina, obtida a partir de resíduos do processamento de crustáceos e composta por duas unidades monoméricas de resíduos de N-acetil-2-amino-2-desoxi-D-glicose e 2-amino-2-desoxi-D-glicose (KANATT et al., 2013; THAKUR; THAKUR,

2014). É amplamente estudada, por apresentar excelentes propriedades antimicrobianas, antioxidantes, biodegradabilidade, capacidade de formação de filme, baixo custo e não toxicidade (SAKWANICHOL; SUNGTHONGJEEN; PUTTIPIPATKHACHORN, 2019; HAMDI et al., 2019).

A quitosana foi aprovada como *Generally Recognized as Safe* (GRAS) pelo *Food and Drug Administration* (FDA) (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2001). Devido suas características, pode ser aplicada em diferentes setores de alimentos, como substituto de gordura, agente gelificante, também como antimicrobiano e antioxidante (ALIREZALU et al., 2019). Estendendo a vida útil, reduzindo a deterioração e inibindo microrganismos em diferentes matrizes alimentares (ARSLAN e SOYER, 2018; CHANG et al., 2019; AGNOLUCCI et al., 2020).

A lactoferrina é uma glicoproteína pertencente à família de proteínas da transferrina, está presente no soro de leite e tem a capacidade de ligar-se ao ferro dentro das células. Esse atributo de regular os níveis de ferro livre contribui para suas propriedades bacteriostáticas, que se dão a partir de dois mecanismos diferentes: o principal, é ligar-se aos íons de ferro, que são indispensáveis na proliferação de microrganismos patogênicos, impossibilitando os microrganismos de utilizar esse mineral para o seu metabolismo. Já o segundo refere-se à interação direta com o patógeno ao se ligar a lipopolissacarídeos de membrana e produzir peróxidos catalisados por íons de ferro, alterando a permeabilidade da membrana e resultando na morte bacteriana (GIANSANTI et al., 2016). Também apresenta forte potencial antimicrobiano contra fungos e vírus (GARCÍA-GARCÍA; SEARLE, 2016).

A lactoferrina foi aprovada para ser utilizada em alimentos pela FDA em 2000 e pela Comissão Europeia em 2012. Dessa forma, foi considerada para uso em uma variedade de produtos alimentares, como componente de ingredientes do leite, como leite em pó integral e desnatado, em concentrados de proteína de soro de leite (WU et al., 2019). Também pode ser adicionada em fórmulas infantis (GIANSANTI et al., 2016), iogurte e suplementos dietéticos (FRANCO et al., 2018)

A lisozima é uma proteína autorizada para utilização em alimentos na União Europeia, no regulamento relativo aos aditivos alimentares (sob 2008/1333/CE) (BEN et al., 2016) e pela FDA nos EUA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 1998). A lisozima tem alto potencial antibacteriano, atuando principalmente contra bactérias Gram-positivas. Seu mecanismo de ação baseia-se na atividade muramidase, que quebra as ligações  $\beta$ -1,4-glicosídicas entre o ácido N-acetilmurâmico e N-acetilglucosamina. Essas ligações estão

presentes principalmente nos peptidoglicanos que constituem a parede celular de bactérias Gram-positivas. Porém, quando associada ao ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA), pode atuar também contra bactérias gram-negativas (SEBAA, 2017; BANCIU; NUMAN; VASILESCU, 2021). Alguns estudos também relatam a capacidade desta enzima para hidrolisar a parede celular de fungos (MANIKANDAN et al., 2015; HERNÁNDEZ-TÉLLEZ et al., 2018). A lisozima purificada de clara de ovo de galinha é usada na indústria para conservação de alimentos, como um agente antibacteriano na produção de vinho, queijo, embutidos, carnes, peixe, produtos de peixe, leite e produtos lácteos, frutas e hortaliças (GYAWALI; IBRAHIM, 2014).

Em relação aos antimicrobianos de origem microbiana, das 55 pesquisas 45,45% (25) foram com nisina, 16,36% (9)  $\epsilon$ -polilissina, 16,36% (9) bacteriófagos e 7,27% (4) com natamicina. A nisina é uma bacteriocina sintetizada por cepas de *Lactococcus lactis* (AMARA et al., 2017). Foi aprovada para uso como conservante de alimentos seguro pela Organização Mundial da Saúde (OMS), Food Standards Australia Nova Zelândia (FSANZ) e FDA. Devido à sua não toxicidade e às suas atividades bacteriolítica e bactericida, atualmente é utilizada em mais de 50 países, sendo permitido o uso de no máximo 250 ppm (DEMIR ÖZER; YILDIRIM, 2017; CODE OF FEDERAL REGULATIONS, 2019). Apresenta atividade antimicrobiana de amplo espectro frente a bactérias Gram-positivas e esporos bacterianos. Seu mecanismo de ação antimicrobiano baseia-se na formação de poros na membrana celular interrompendo a biossíntese da parede a partir da interação específica do lipídio II (OSHIMA et al., 2014; PRINCE et al., 2016).

Atualmente são usadas no laticínio, produtos cárneos, bebidas e enlatados. Entretanto, a nisina pode perder sua eficácia antimicrobiana se exposta a condições físico-químicas adversas (pH, força iônica ou temperatura). Também pode ser reduzida em alimentos e produtos de emulsão por sua suscetibilidade às interações com proteínas e fosfolipídios e sua baixa solubilidade (CUI et al., 2017). Porém quando utilizadas em condições ideais são bastante eficazes, como mostra os estudos (KHORSANDI et al., 2019; XIONG et al., 2020; OZER, 2021).

A  $\epsilon$ -polilissina é um peptídeo antimicrobiano, produzido pela fermentação aeróbia, principalmente da bactéria *Streptomyces albulus* e por alguns outros microrganismos (BO et al., 2014). Foi confirmado como seguro em experimentos realizados em ratos e aprovado pela FDA para uso em alimentos. É estável em altas temperaturas, solúvel em água e biodegradável (HYLDGAARD et al., 2014). Tem atraído à atenção de pesquisadores e indústrias alimentícias,

em virtude do seu potencial antimicrobiano contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos, devido também sua característica estável, segurança e efeito mínimo na qualidade sensorial dos alimentos (YE et al., 2013; FU et al., 2016).

Bacteriófagos são vírus que infectam especificamente as bactérias, estão distribuídos por todos os ambientes, sendo os microrganismos mais abundantes no planeta, estes desempenham um papel modulador nas populações bacterianas e são inofensivos para humanos, animais e plantas (MAN-RIQUE; DILLS; YOUNG, 2017). Apresentam grande potencial para uso como agente de biocontrole em alimentos, pois coexistem com bactérias em seu habitat natural ao longo do tempo, são específicos do hospedeiro, possuem alto potencial antimicrobiano e não causam nenhum impacto deletério na microbiota alimentar (SPRICIGO et al., 2013). O uso de bacteriófagos não é liberado na Europa. Porém, em outros países desenvolvidos, como os EUA, Canadá, Austrália e Nova Zelândia, as políticas de legislação alimentar já permite a aplicação de bacteriófagos (CHIBEU et al., 2013). Estudos relataram seu uso no controle de diferentes micróbios patogênicos e indutores de deterioração, como *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. em alimentos como produtos cárneos, frutas e verduras (FIGUEIREDO; ALMEIDA, 2017; KUMAR et al., 2020).

A natamicina é um polieno produzido pela bactéria *Streptomyces natalensis* após um processo de fermentação aeróbia (TSIRAKI; SAVVAIDIS, 2014). É um agente antimicrobiano natural amplamente utilizado para prevenir a contaminação por bolores e leveduras, mas não contra bactérias, vírus e protozoários. Atua inibindo principalmente o crescimento fúngico via ligação específica ao ergosterol, que está presente na composição da membrana fúngica (APARICIO et al., 2016). Mostra algumas vantagens para utilização em alimentos, por não apresentar cor, odor e sabor; além disso, tem toxicidade muito baixa para células humanas (ARIMA et al., 2014; MOATSOU et al., 2015). A natamicina é reconhecida como segura (GRAS) pela FDA, aprovada como aditivo alimentar em mais de 40 países e usada como conservante natural na Europa. Algumas pesquisas mostram seu potencial inibidor de fungos em amostras de alimentos (BEN-FADHEL et al., 2017; GARAVAGLIA et al., 2019; KARAMAN; SAGDIC; YILMAZ, 2020).

Para os 211 estudos com antimicrobianos de origem vegetal, tivemos óleos essenciais 29,85% (63), compostos isolados 27,01% (57) e extratos 25,59% (54). Antimicrobianos à base de plantas são frequentemente encontrados em óleos essenciais, extratos e compostos isolados, esses são oriundos de flores, sementes, frutos, brotos, folhas, galhos, cascas, caules, bulbos, rizomas ou raízes, denominados metabólitos secundários, como polifenóis, alcaloides, taninos,

terpenóides e flavonoides, em sua maioria, envolvidos na defesa das plantas contra fitopatógenos, herbívoros e insetos (RODRIGO; PALOP, 2021).

Os óleos essenciais são misturas complexas extraídos de plantas, considerados um dos principais grupos de compostos bioativos, são voláteis, aromáticos, geralmente líquidos e incolores em temperatura ambiente, compostos por uma ampla variedade de metabólitos secundários, incluindo monoterpenos (limoneno,  $\alpha$ -pineno e P-cimeno), fenilpropanóides (cinamaldeído, eugenol e safrol) e monoterpenóides (timol, citrônella e carvacrol) (PANDEY et al., 2017; FALLEH et al., 2020). Possuem propriedades antioxidantes e antimicrobianas de amplo espectro (CALO et al., 2015), seu mecanismo antibacteriano está relacionado ao vazamento de material intracelular, resultando na morte celular e sua natureza hidrofóbica pode interferir na membrana lipídica bacteriana gerando o aumento da permeabilidade dos constituintes da célula (HACWYDRO; FLASINSKI; ROMANCUK, 2017; WANG et al., 2018b). Quanto ao antifúngico, os óleos essenciais estabelecem um potencial de membrana através da parede celular e interrompem a produção de ATP, levando a danos na parede celular, também podem desintegrar a membrana mitocondrial, interferindo no sistema de transporte de elétrons (BECERRIL; NERÍN; SILVA, 2020).

Os óleos essenciais são geralmente reconhecidos como seguros e são aprovados para utilização na Europa e Estados Unidos (GARCÍA-GARCÍA; SEARLE et al., 2016), porém seu uso pode ser limitado por alguns fatores, como mudanças sensoriais, temperatura, pH, baixa miscibilidade em soluções hidrofílicas e interações com componentes como proteínas e gorduras (MENDONÇA et al., 2018). Entretanto, vários trabalhos têm mostrado sua eficácia, para ser utilizado como conservante em alimentos (KANG; SONG, 2018; RIBES; FUENTES; BARAT, 2019; KOCIĆ-TANACKOV et al., 2020; HASHEMI; JAFARPOUR, 2020).

Os compostos isolados que mais se destacaram nos trabalhos estudados foram carvacrol 26,31% (15) e timol 15,78% (9). O carvacrol é um importante composto fenólico presente principalmente nos óleos essenciais de orégano, pimenta e bergamota selvagem (VERGIS et al., 2015). Apresenta baixa toxicidade, sabor agradável e tem propriedades antioxidantes, antifúngicas e antibacterianas (GINEX et al., 2014; SUNTRES; COCCIMIGLIO; ALIPOUR, 2015). Exibe alta atividade antimicrobiana frente a microrganismos deteriorantes e patógenos de origem alimentar, como *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* (FIELD et al., 2015; MILADI et al., 2016). Age rompendo a membrana celular e mitocondrial, causando danos na barreira de permeabilidade, ocasionando o vazamento de íons, ácidos nucleicos e aminoácidos (DONSÌ et al., 2012). O

carvacrol foi aprovado para consumo humano e rotulado como GRAS pela FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2018), para uso em alimentos e bebidas. Estudos comprovam o potencial desse composto para utilização em alimentos (FAN et al., 2019; BATISTA et al., 2019; CHURKLAM et al., 2020).

Outro composto isolado é o timol, derivado do óleo essencial de tomilho e orégano, tem um amplo espectro de atividades antimicrobianas e mostrou efeitos inibitórios frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, além da atividade antibacteriana também apresenta outras atividades biológicas, como antifúngicas, antioxidantes e anti-inflamatórias (BURT, 2004; WANG et al., 2020; CHEN et al., 2021). No entanto, o timol é um composto volátil, com forte odor e insolúvel em água, e sua ação biológica pode ser afetada pela luz, calor e mudanças na pressão de vapor. Para solucionar as desvantagens estudos estão sendo desenvolvidos com o intuito de melhorar a constância e ajustar a permeabilidade de compostos bioativos em revestimentos comestíveis, através de nanopartículas desenvolvidas pela nanotecnologia que podem atuar como sistemas de entrega seletiva para transportar aditivos alimentares em produtos alimentícios (SAHANI; SHARMA, 2020).

De acordo com Kong et al. (2019) o mecanismo de ação antimicrobiana do timol está associado ao dano na membrana citoplasmática, interagindo com proteínas de superfície, resultando em alterações irreversíveis na permeabilidade e consequentemente vazamento de compostos intracelulares. O timol foi registrado na lista europeia de aromatizantes e classificado como GRAS pela FDA (MARCHESE et al., 2016). Muitos estudos relatam seu potencial como conservante de alimentos, principalmente quando utilizados em filmes e revestimentos (BOYACI et al., 2019).

Os extratos contêm algumas substâncias químicas chamadas fitoquímicos que são classificados como polifenóis, terpenóides, taninos, flavonoides, lectinas, entre outros (NEGI, 2012). Extratos vegetais são bastante usados como tempero visto seu sabor único. No entanto, alguns apresentam sabor forte, sendo aspecto limitante de uso, pois em concentrações elevadas pode causar características organolépticas indesejáveis. Porém estudos mostram que os extratos combinados são mais eficazes do que utilizado individualmente (SULTANBAWA, 2011). São excelentes antimicrobianos frente a bactérias, incluindo *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhimurium* (VÁZQUEZ-ARMENTA et al., 2017) e fungos como *Penicillium digitatum* (KHARCHOUFI et al., 2018) e *Penicillium expansum* (HERAS-MOZOS et al., 2019).

A atividade antimicrobiana dos extratos pode ser atribuída a alguns mecanismos conhecidos que incluem a capacidade de modificar a permeabilidade das membranas celulares, as alterações em várias funções intracelulares causadas pela ligação dos polifenóis às enzimas ou pela perda da integridade da parede celular devido a várias interações com a membrana celular (BOUARAB-CHIBANE et al., 2019). Vários estudos estão sendo realizados, a fim de comprovar seu potencial como conservante alimentar (YEMMIREDDY et al., 2020; WONG; RAMLI; CHEN, 2021; MAHDAVI-ROSHAN; GHEIBI; POURFARZAD, 2022).

## 6.2 Método para análise antimicrobiana *in vitro*

Dos 236 artigos analisados 44,06% (104) realizaram estudos preliminares *in vitro* para observar a atividade dos antimicrobianos naturais, desses 43,26% (45) utilizaram microdiluição, 18,26% (19) microdiluição e difusão, 17,30% (18) disco-difusão e 6,73% (7) difusão em poços. Para a determinação do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos, várias metodologias estão disponíveis, no entanto, algumas são consideradas padrão-ouro, como a microdiluição em caldo, essa técnica, fornece resultados quantitativos, designando a concentração inibitória mínima (CIM) capaz de inibir o crescimento microbiano. Outras técnicas bastante utilizadas são disco-difusão e difusão em ágar, porém, apesar de serem de fácil execução, são qualitativas, não sendo capazes de prever a CIM. Portanto, menos confiáveis quando comparados com a microdiluição em caldo (CAMPANA et al., 2011).

O teste de microdiluição em caldo, por ser um método padrão-ouro é padronizado por *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST)* e *International Organization for Standardization (ISO)* (POUPARD; RITTENHOUSE; WALSH, 2013). Técnica bastante vantajosa, pois, além de determinar a CIM também indicar a concentração bactericida mínima (CBM), menor quantidade de droga na qual 99,9% das bactérias são mortas. No entanto, é um método laborioso, quando não é preparado de modo automatizado, pode levar a erros significativos (POIREL; JAYOL; NORDMANN, 2017). Várias pesquisas comprovam o potencial de antimicrobianos naturais utilizando essa técnica, que é bastante eficaz, para posterior adição na matriz alimentar (CETIN-KARACA; NEWMAN, 2018; LIMA et al., 2019; LEE et al., 2020).

O método de disco-difusão geralmente é utilizado como teste primário para realizar *screening* em um grande número de amostras, sendo considerada a técnica mais usada na rotina dos laboratórios de microbiologia. Por ser um teste simples, de fácil interpretação e que não necessita de aparelhagem específica. Entretanto, estudos mostram que essa técnica pode

conferir um alto índice de falsa susceptibilidade, de até 35% comparado com outros métodos de diluição (POIREL; JAYOL; NORDMANNA, 2017). Além da medição manual dos diâmetros dos halos de inibição exigir alto tempo de consumo, propenso a erros de transcrição, que pode provocar variações nos resultados, esse antibiograma também é desvantajoso por não permitir calcular o MIC (NIJS et al., 2003). No entanto, várias pesquisas demonstram ser uma técnica amplamente utilizada para realização de *screening* (MIZI et al., 2019; SAFAEI; AZAD, 2020)

Outra técnica bastante utilizada para realização de *screening* é difusão em poços. O método de disco-difusão é uma metodologia simples de realizar testes *in vitro*, porém não são todos os agentes antimicrobianos que estão disponíveis em discos, além disso, têm o preço elevado. Em 1997, Magaldi desenvolveu uma modificação do método de difusão em disco que denominou de “difusão em poço”. Sendo este um procedimento semelhante ao de difusão em discos, nesse método são perfurados poços no ágar, onde são colocadas as drogas, as quais podem ser padronizadas em várias concentrações (MAGALDI; CAMERO, 1997; MAGALDI et al., 2001). A difusão em poços é um método barato, simples, permite a identificação rápida da suscetibilidade, fornecendo resultados confiáveis e uma medida da inibição do crescimento microbiano e produz resultados comparáveis com o teste de difusão em disco (BALOUIRI; SADIKI; IBNSOUDA, 2016). Estudos comprovam ser uma técnica usada para realizar análise preliminar do potencial de antimicrobianos (BOYACI et al., 2019; KOCIĆ-TANACKOV et al., 2020).

### **6.3 Formas de aplicação dos antimicrobianos**

Existem várias formas de aplicação dos antimicrobianos nos alimentos, dos trabalhos observados as que se apresentaram de maneira mais pertinente foram, aditivos 47,45% (113), revestimentos 27,96% (66) e filmes 13,98% (33). Para inibir o crescimento microbiano nos alimentos, os antimicrobianos podem ser adicionados diretamente na formulação do produto, na forma de revestimentos na superfície ou incorporados a filmes. A adição direta de antimicrobianos em alimentos resulta em uma redução imediata das populações bacterianas, mas em curto prazo (HANUŠOVÁ et al., 2009). Os compostos adicionados são sensíveis a condições adversas de processamento e armazenamento, podendo diminuir significativamente sua eficiência. A aplicação direta tem liberação descontrolada e a maioria deles é liberada nos primeiros dias de armazenamento, o que reduz seu desempenho sendo necessária a aplicação de uma dose muito alta, no entanto, elevadas quantidades também podem afetar as propriedades

sensoriais (BABAZADEH et al., 2019; JAFARI et al., 2019). Muitos estudos têm sido realizados com adição direta de antimicrobianos (VAFANIA, FATHI; SOLEIMANIAN-ZAD, 2019; AL-JUHAIMI et al., 2020; ALÍA et al., 2020).

Os revestimentos são aplicados em produtos alimentícios, com a finalidade de prolongar sua vida útil e fornecer uma barreira eficaz contra microrganismos. São produzidos direto na superfície do alimento, sendo aplicados na forma líquida, usando métodos simples, como imersão e pulverização, e podem ser ingeridos juntamente com o alimento (GANIARI et al. 2017; PARREIDT et al., 2018). Os revestimentos se caracterizam por reduzirem a migração de umidade, as trocas gasosas, a respiração, as taxas de reação oxidativa, retardarem mudanças nas propriedades de textura e melhorarem a integridade mecânica dos alimentos (VERSINO et al., 2016). Já o material de revestimento deve conservar as características sensoriais do produto, ter uma boa propriedade de adesão à superfície do alimento, deve oferecer estabilidade estrutural, semi-permeabilidade, barreira à umidade, oxigênio e movimento de soluto. Devendo também ser livre de qualquer componente tóxico, alérgico ou não digerível, e deve ser facilmente produzido e economicamente viável (JANJARASSKUL; KROCHTA, 2010). A aplicação de antimicrobianos naturais nos alimentos utilizando revestimento é uma técnica promissora, dessa forma, vários trabalhos constataam seu potencial para melhorar a qualidade microbiológica dos produtos alimentícios (LEE et al., 2020; CHUESIANG; SANGUANDEEKUL; SIRIPATRAWAN, 2020; KRITCHENKOV et al., 2021).

Os filmes são formados separadamente, moldados como folhas sólidas e posteriormente aplicados como um envoltório no produto, podendo ser inserido sobre ou entre os componentes dos alimentos (MURRIETA-MARTÍNEZ et al., 2018), funcionam como uma embalagem primária, que está diretamente em contato com o alimento, formando uma barreira de gás e umidade, melhorando as propriedades mecânicas, diminuindo a carga microbiana e mantendo as propriedades sensoriais, prolongando assim o prazo de validade (GALUS; KADZI, 2015). Outro fator importante é que essas embalagens são capazes de liberar os antimicrobianos de forma controlada, porém devem ser observados alguns aspectos, como a compatibilidade com as propriedades dos alimentos, liberação e solubilidade do antimicrobiano na comida, são alguns dos principais fatores para projetar um filme antimicrobiano de liberação controlada (ZAMBRANO-ZARAGOZA et al., 2018). As indústrias de embalagens estão demonstrando interesse no uso de antimicrobianos naturais em filmes para melhorar a qualidade dos alimentos (QUINTO et al., 2019). Muitas pesquisas confirmam a atividade antimicrobiana de filmes

ativos em diversos alimentos (SALÁKOVÁ et al., 2019; GONÇALVES et al., 2020; SU et al., 2021).

#### **6.4 Estudo de alimentos com antimicrobianos naturais**

Vários estudos estão sendo realizados para testar o potencial dos antimicrobianos naturais nos alimentos. A partir dessa pesquisa observa-se que 35,16% (83) utilizaram produtos cárneos, 25,86% (61) frutas e verduras, 12,71% (30) leite e derivados e 8,05% (19) sucos, sendo esses os alimentos mais citados. Os produtos cárneos são com amplo interesse para estudo, por serem muito consumidos, fazendo parte da dieta desde a origem do homem, sendo um componente indispensável da alimentação, devido ao seu conteúdo proteico, de vitaminas, minerais e micronutrientes (LORENZO; PATEIRO, 2013). Muitos trabalhos comprovam a eficácia de substâncias antimicrobianas naturais em produtos cárneos (KHODAYARI et al., 2019; DUAN et al., 2020; LIU et al., 2020).

Frutas e verduras também se destacam por ser parte essencial de uma dieta saudável, devido ao seu valor nutricional, pois são fontes de vitaminas, elementos minerais e fibras (MOHAMED et al., 2016). Dessa forma, são amplamente estudadas em virtude das dificuldades em preservar sua qualidade de aparência fresca durante longos períodos (DEL NOBILE et al., 2012). Nesta pesquisa foram vistos vários estudos confirmando o potencial de antimicrobianos naturais em frutas e verduras (BOYACI et al., 2019; CUGGINO et al., 2020; YEMMIREDDY et al., 2020).

O leite e seus derivados é outra classe de alimentos bastante consumida, estes apresentam alto valor nutricional, caracterizando-se como uma importante fonte de nutrientes na nutrição humana, oferecendo proteínas, minerais, aminoácidos e vitaminas (NIRO et al., 2017). No entanto, devido às suas propriedades nutricionais, o leite e derivados também são uma matriz de crescimento para uma ampla variedade de microrganismos, tanto patogênicos quanto deteriorantes (LINDSAY et al., 2021). Muitas pesquisas vêm sendo desenvolvidas com antimicrobianos naturais aplicados em alimentos, com o intuito de produzir alimentos com melhor qualidade microbiológica, resultados mostram a eficiência desses antimicrobianos inseridos em leite e seus derivados (FARZANEH et al., 2019; LIM et al., 2020; GHARIEB et al., 2020).

Os sucos também têm sido bastante estudados, por suas excelentes propriedades nutricionais, como alto teor de vitamina C, minerais, fibras alimentares e outros metabólitos

benéficos para a saúde (TANG et al., 2015). No entanto são bastante susceptíveis a contaminação microbiana, portanto, tratamentos térmicos como pasteurização e esterilização são utilizados para inativar enzimas e destruir microrganismos. Porém, os tratamentos com altas temperaturas afetam negativamente a qualidade dos alimentos, destruindo alguns componentes biológicos e afetando as características nutricionais e sensoriais dos alimentos (ZANG; WANG; ZHAO et al., 2013). Dessa forma, trabalhos mostram o uso de antimicrobianos naturais como alternativa para os tratamentos térmicos, com o intuito de conservar as características nutricionais e melhorar a qualidade microbiana (PEÑA-GÓMEZ et al., 2019; THOMAS-POPO et al., 2019; ZHOU et al., 2020).

## **7 CONCLUSÃO**

Existe interesse dos pesquisadores em estudar a aplicação de antimicrobianos naturais em uma ampla variedade de alimentos, visto a grande quantidade de estudos desenvolvidos nessa área. Em decorrência da urgência para identificar antimicrobianos naturais que tenham potencial para serem utilizados na conservação de alimentos. Sendo uma alternativa aos conservantes sintéticos, em virtude, do potencial impacto negativo desses aditivos a saúde do consumidor, quando utilizados em quantidades elevadas e em longo prazo.

Observa-se grande potencial dos antimicrobianos naturais ao serem aplicados na matriz alimentar, sendo eles de fontes vegetais, animais ou microbiana, com destaque para os antimicrobianos de origem vegetal, em especial os óleos essenciais que são bastante estudados e considerados uma alternativa promissora aos conservantes sintéticos. A aplicação dos antimicrobianos em forma de filme e revestimento também se mostram técnicas amplamente eficazes, sendo uma proposta inovadora e auspiciosa para o sistema de conservação de alimentos.

Além dos antimicrobianos naturais já existentes, existem vários outros oriundos de plantas, animais ou microbianos que precisam ser estudados. Sendo importante desenvolver mais estudos para a descoberta de novos conservantes naturais, bem como a identificação de seus compostos ativos, efeito antimicrobiano sobre os alimentos e também determinação das concentrações apropriadas que sejam capazes de manter os padrões sensoriais e de segurança alimentar.

## APLICAÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Syzygium aromaticum* e *Zingiber officinale* COMO ANTIMICROBIANOS NATURAIS NA PRODUÇÃO DE LINGUIÇA TOSCANA

### RESUMO

O uso excessivo de conservantes sintéticos pode gerar resistência aos antibióticos e apresenta efeito carcinogênico, em vista de seus efeitos negativos, estudos têm sido realizados para substituí-los por conservantes naturais, dentre estes, destacam-se os óleos essenciais. Objetivou-se avaliar a qualidade da linguiça toscana produzida com adição de óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Zingiber officinale* como conservantes naturais. Foi realizada a análise da composição química e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais. As linguiças foram analisadas quanto a qualidade microbiológica, físico-química e sensorial. Os compostos majoritários presentes nesses óleos essenciais são eugenol (62,81%) e geranial (22,33%), respectivamente. Os óleos essenciais apresentaram ação inibitória frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. com concentrações entre 0,625 e 2,500 mg/mL. Quando aplicados em linguiça toscana, reduziu o crescimento de *E. coli* e aeróbias mesófilas. Os parâmetros físico-químico e microbiológicos estão dentro do padrão estabelecido pela legislação. As linguiças tiveram aceitabilidade no teste sensorial de 5.5, na escala de intenção de compra. Os óleos essenciais de *S. aromaticum* e *Z. officinale* têm potencial para serem utilizados na conservação de embutidos cárneos.

**Palavras chave:** Conservante natural, Embutidos cárneos, Eugenol, *Escherichia coli*

### ABSTRACT

O uso excessivo de conservantes sintéticos pode gerar resistência às bactérias e apresentar efeito carcinogênico, em vista de seus efeitos negativos, estudos têm sido realizados para substituir os por conservantes naturais, dentre estes, destacam-se os óleos essenciais. Objetivou-se avaliar a qualidade da linguiça toscana produzida com adição de óleos essenciais de *Syzygium aromático* e *Zingiber officinale* como conservantes naturais. Foi realizada a análise da composição química e atividade antimicrobiana dos óleos essenciais. As linguagens foram comprovadas quanto à qualidade microbiológica, físico-química e sensorial. Os compostos majoritários presentes nesses óleos essenciais são eugenol (62,81%) e geranial (22,33%), respectivamente. Os óleos essenciais tiveram ação inibitória frente a *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. com concentrações entre 0,625 e 2.500 mg/mL. Quando aplicado na língua

toscana, o crescimento de *E. coli* e aeróbias mesófilas são prejudiciais. Os parâmetros físico-químicos e microbiológicos estão dentro do padrão previsto pela legislação. As linguiças tiveram aceitabilidade no teste sensorial de 5.5, na escala de intenção de compra. Os óleos essenciais de *S. aromático* e *Z. officinale* têm potencial para serem utilizados na conservação de carnes embutidos.

**Keywords:** Natural preservative, Meat sausages, Eugenol, *Escherichia coli*

## 8 INTRODUÇÃO

A carne está presente na dieta de maior parte da população mundial, tendo em visto seu alto valor nutricional, principalmente o elevado teor de proteína (KAUSAR et al., 2019). Porém, a carne fresca não é estável para ser armazenada ao longo prazo, deteriorando-se em poucos dias, esse problema é resolvido, a partir do seu processamento (ZHANG et al., 2023). Produzindo-se produtos cárneos, a exemplo da linguiça, com longa vida útil, textura única, sabor, densidade nutricional, preço acessível e de muitas variedades diferentes, fatores que os levam a ocupar um lugar importante da dieta humana (SUURS; BARBUT, 2020).

Para o processamento desses alimentos são utilizados aditivos alimentares como os nitritos, que limitam a oxidação lipídica, protegendo contra o crescimento de microrganismos patogênicos e/ou deteriorantes, conferindo-lhes cor, sabor e aroma característicos (MAJOU; CHRISTIEANS, 2018; FLORES; TOLDRÁ, 2021). Esses aditivos alimentares são autorizados na União Europeia pelo Regulamento (UE) n.º 1129/2011, que determina a quantidade máxima de 150 mg kg<sup>-1</sup> (COMISSÃO EUROPEIA, 2008), já a dose diária aceitável de acordo com o Comitê Científico da Alimentação Humana (CCAH) da Comissão Europeia e o Comitê Misto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA), é de 0,06 e 0,07 miligramas por quilograma de peso corporal dia, respetivamente (OOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002).

No entanto, o uso excessivo dos conservantes sintéticos pode gerar resistência aos antibióticos, reduzindo a eficácia dos medicamentos e agentes antimicrobianos, utilizados em infecções alimentares (YASIR et al., 2022). Além do mais, sua ingestão excessiva e a longo prazo, gera o acúmulo exacerbado de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> no organismo, podendo reagir com amidas e aminas e transformar-se em N-nitrosaminas, como a carcinogênica N-nitrosodimetilamina. Sua formação depende principalmente, da quantidade de entrada de nitritos, condições de

processamento e presença de aminas secundárias (ZHE et al., 2019; FLORES; TOLDRÁ, 2021).

Visto o potencial efeito negativo dos aditivos sintéticos e a preocupação da população por alimentos mais saudáveis, os antimicrobianos naturais têm sido uma alternativa atraente aos conservantes sintéticos (FALLEH et al., 2020). Os óleos essenciais são antimicrobianos naturais de origem vegetal, obtidos de plantas aromáticas, que se caracterizam como misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas e com baixo peso molecular. São conhecidos como agentes antimicrobianos altamente eficazes, prevenindo a deterioração e inibindo o crescimento de microrganismos, seu potencial antimicrobiano é atribuído aos seus compostos voláteis (terpenos, fenóis, aldeídos, lactonas, ésteres) (SALANT; CROPOTOVA, 2022).

Vários estudos mostram sua eficácia na inibição e redução do crescimento microbiano, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. (SALLAM et al., 2021; SALVI et al., 2022; FAZAL et al., 2023). Os óleos essenciais vêm conquistando a atenção da indústria alimentícia nos últimos tempos, devido à sua capacidade de controlar o crescimento de microrganismos patogênicos transmitidos por alimentos (BHAVANIRAMYA et al., 2019). O estudo objetivou avaliar a qualidade da linguiça toscana produzida com adição de óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Zingiber officinale* como conservantes naturais.

## **9 MATERIAL E MÉTODOS**

### **9.1 Extração dos óleos essenciais**

As plantas utilizadas para a extração dos óleos essenciais foram *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e *Zingiber officinale* (gengibre). O material vegetal foi comprado no Mercado Público de Sobral – CE e levado ao Laboratório de Química de Produtos Naturais da Universidade Estadual do Vale do Acaraú – UVA, onde foi submetido ao processo de hidrodestilação durante 4 horas em um aparelho do tipo Clevenger, em seguida seco com sulfato de sódio anidro (~1 g), colocado em frasco selado e mantido sobrefrigeração.

### **9.2 Análise da composição dos óleos essenciais**

#### **9.2.1 Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM):**

A análise qualitativa dos óleos foi realizada por CG-EM utilizando um instrumento Agilent modelo GC-7890B/MSD-5977A, com impacto de elétrons a 70 eV, coluna HP-5MS metilpolissiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), gás carreador hélio com fluxo 1,00 mL.min<sup>-1</sup>

(8,8 psi) e velocidade linear constante de  $36,8 \text{ cm.s}^{-1}$ , temperatura do injetor  $250 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , temperatura do detector  $150 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , temperatura da linha de transferência  $280 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Programação do forno cromatográfico: temperatura inicial de  $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , com rampa de aquecimento de  $4 \text{ }^{\circ}\text{C.min}^{-1}$  até  $180 \text{ }^{\circ}\text{C}$  e acréscimo de  $10 \text{ }^{\circ}\text{C/min}$  até  $250 \text{ }^{\circ}\text{C}$  ao término da corrida (34,5 min). Os compostos foram analisados pela análise dos padrões de fragmentação exibidos nos espectros de massas com aqueles presentes na base de dados fornecidos pelo equipamento (NIST versão 2.0 de 2012 – 243.893 compostos) e de dados da literatura.

### 9.2.2 Cromatografia em fase gasosa acoplada ao detector de ionização em chama (CG-DIC):

A análise quantitativa foi realizada por CG-DIC utilizando um instrumento Shimadzu modelo CG-2010 Plus, coluna RTX-5 metilpolissiloxano ( $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 0,25 \text{ }\mu\text{m}$ ), modo de injeção com divisão de fluxo 1:30, gás carreador nitrogênio com fluxo  $1,00 \text{ mL.min}^{-1}$  (84,1 kPa) e velocidade linear constante de  $\text{cm.s}^{-1}$ , temperatura do injetor  $250 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , temperatura do detector de  $280 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Programação do forno cromatográfico: temperatura inicial de  $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$  com rampa de aquecimento de  $4 \text{ }^{\circ}\text{C.min}^{-1}$  até  $180 \text{ }^{\circ}\text{C}$  por 27,5 min, seguida por rampa de aquecimento de  $10 \text{ }^{\circ}\text{C.min}^{-1}$  até  $250 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , ao término da corrida (34,5 min). Os compostos foram identificados através da comparação dos seus índices de retenção com os de compostos conhecidos, obtidos por injeção de uma mistura de padrões contendo uma série homóloga de alcanos  $\text{C}_7\text{-C}_{30}$ , e de dados da literatura.

### 9.3 Método de microdiluição em caldo

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com o documento M100- 40 S26 do Clinical and Laboratory Standards Institute (2015), testando os óleos essenciais das plantas em estudo, frente às cepas ATCC- *American Type Culture Collection* de *Staphylococcus aureus* 25923, *Escherichia coli* 25922 e *Salmonella* sp. um isolado clínico da Biolab clínica, essas foram cultivadas em meio caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI) a  $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, a fim de se obter culturas ativas. Para preparo do inóculo alíquotas foram diluídas em solução salina 0,9%, ajustada à solução padrão de McFarland com concentração de aproximadamente  $10^8 \text{ UFC/mL}$ , em seguida foi diluída a 1:2000 em BHI, obtendo-se a concentração final do inóculo. A análise foi realizada em placas de 96 poços, onde foram adicionados  $50 \text{ }\mu\text{L}$  de caldo BHI, na primeira coluna da placa adicionou-se  $50 \text{ }\mu\text{L}$  do óleo essencial diluído em Tween 2%, depois foi realizada a diluição seriada a partir da retirada de uma alíquota de  $50 \text{ }\mu\text{L}$  da cavidade mais concentrada

para a cavidade sucessora, posteriormente foram colocados 50 µL do inóculo em todos os poços, obtendo-se concentrações de (2500 µg/mL a 2 µg/mL). O meio de cultura isolado foi utilizado como controle negativo, enquanto o meio de cultura juntamente com o inóculo bacteriano foi utilizado para o controle positivo. A análise foi realizada em triplicata e as placas colocadas em estufa a 37 °C por 24 horas para leitura posterior, utilizando leitor de ELISA com absorvância de 620 nm. A concentração bactericida mínima (CBM) foi realizada com cepas que apresentaram sensibilidade na concentração inibitória mínima (CIM), sendo retirada 10 µL da solução de poços sem turbidez e adicionado 5 mL de meio BHI, incubados em estufa bacteriológica a 37 °C. As CBM's resultando em ausência de crescimento na subcultura após 24 horas (SFM ANTIBIOGRAM COMMITTEE, 2003).

#### **9.4 Elaboração das linguiças**

As linguiças foram produzidas no Laboratório de Tecnologia de Produtos Agropecuários-LTPA da UVA, respeitando as Boas Práticas de Fabricação - BPF, de acordo com a RDC nº 272 (BRASIL, 2019c) e Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (BRASIL, 2000). A matéria-prima utilizada foi adquirida em supermercado, portadoras de selo SIF, no município de Sobral - CE. Foram fabricados 10 kg de linguiça, usando sobrepaleta suína desossada (72,23%), triturada em moinho manual, posteriormente condimentada com sal (1,32%); alho (2%); cebola (2,75%); noz moscada (2,2%); glutamato monossódico (1,0%); ligatari (1,0%); pimenta (0,25%); páprica (0,25%); toucinho (9,0%) e água (8,0%), adicionou-se os óleos essenciais de cravo-da-índia e gengibre, assim identificados: 0%; C0,1%; C0,2% (cravo-da-índia) e G0,2%; G0,4% (gengibre), as massas foram homogeneizadas, curadas por 12 horas e embutidas em tripa natural suína com calibre de 26-32 mm. Após a preparação, as linguiças foram embaladas em bandejas e colocadas no freezer à -10 °C.

#### **9.5 Análise física**

O pH foi realizado de acordo com a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (2008), quando foram pesadas 10 g da amostra, diluídas em 100 mL de água destilada, agitando-se até a total suspensão das partículas, posteriormente a leitura foi realizada com pHmetro previamente calibrado com as soluções tampões 4,0 e 7,0.

A cor foi analisada segundo a International Commission on Illumination (1978), utilizando um colorímetro digital portátil (Minolta CR-300/Sistema CIELAB) para observar variações na coloração das linguiças. Foram analisados de acordo com os parâmetros

pertencentes ao sistema CIELab, com fonte iluminante D65 e calibrado com porcelana padrão ( $Y = 87,1$ ;  $x = 0,3164$  e  $y = 0,3228$ ), onde  $L^*$  indica luminosidade (0= preto e 100=branco),  $a^*$  e  $b^*$  representam as coordenadas de cromaticidade ( $+a^*$  = vermelho,  $-a^*$  = verde;  $+b^*$  = amarelo,  $-b^*$  = azul).

Para o teste da Capacidade de Retenção de Água (CRA) foram pesadas 5 g de amostra triturada e posta entre dois papéis filtro circulares com 20 cm de diâmetro, então foi isolada a parte superior e inferior com placas de acrílico colocando-se um peso de 5 kg durante 5 minutos, em seguida as amostras foram novamente pesadas para determinar a diferença de peso, usando o seguinte cálculo:  $CRA = ((\text{peso inicial} - \text{peso final}) / \text{peso inicial}) \times 100$  (SIERRA et al., 1973).

Na Perda de Peso por Cocção (PPC) foram pesadas três fatias de linguiça com aproximadamente 1,5 cm de espessura, 3,0 cm de comprimento e 2,5 cm de largura, em seguida foram assadas em forno pré-aquecido a 170 °C até que fosse atingido 71 °C em seu centro geométrico. Foram deixadas à temperatura ambiente e novamente pesadas. A perda foi calculada pela diferença de peso das fatias e expressas em gramas por 100g de carne (DUCKETT et al., 1998). Todas as análises foram feitas em triplicata nos períodos de 0; 7; 14; 21 e 28 dias.

## 9.6 Análise química

A determinação de umidade, proteínas, lipídeos e cinzas das amostras de linguiças foram realizadas conforme o método descrito pela Association of Official Analytical Chemists (2016), todas as análises foram feitas em triplicata. Para o teste de umidade, as amostras foram secas em estufa com ventilação forçada a 105 °C até peso constante. O teor de proteína determinou-se pelo método Kjeldahl, empregando o fator 6,25 para a conversão de nitrogênio em proteína. O lipídeo foi obtido através do método de extração direta em Soxhlet, usando o hexano como solvente, as cinzas foram obtidas em mufla a 550 °C, pela incineração completa dos compostos orgânicos.

## 9.7 Análise sensorial

O perfil sensorial do produto foi avaliado por 8 provadores treinados, estudantes, incluindo homens e mulheres de diferentes faixas etárias (20-30 anos). A avaliação sensorial foi realizada utilizando a Análise Descritiva Quantitativa, a partir dos parâmetros: cor, aroma, sabor, maciez e avaliação global do produto. As intensidades dos atributos foram avaliadas em

escalas não estruturadas de 10 cm e de acordo com a UNE-ISO 4121:2006. Também foi avaliada, a intenção de compra, de acordo com a escala de 1 a 7 (1 - Nunca compraria a 7 - Compraria sempre). Nos períodos 7 e 21 dias de produzidas, sendo duas sessões e duas repetições. As amostras foram identificadas e servidas com números aleatórios, de três dígitos acompanhados de biscoito tipo craker e água mineral para que o provador pudesse limpar o paladar entre uma amostra e outra (TRINDADE et al., 2009).

### **9.8 Análise microbiológica**

Os testes microbiológicos foram realizados no Laboratório de Microbiologia - LABMIC da Universidade Estadual Vale do Acaraú – UVA, onde pesquisou-se a contagem de *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. e contagem total de mesófilos, conforme exigido pela legislação, IN nº 60/2019 (BRASIL, 2019b), para linguiça. Foram pesados 5g de linguiça e homogeneizados em 45 mL de água peptonada (0,1%) estéril, obtendo-se a diluição ( $10^{-1}$ ), seguida de diluições sucessivas até ( $10^{-3}$ ). Alíquotas das diluições foram plaqueadas em placas com ágar Sorbitol MacConkey para *Escherichia coli*, *Salmonella Shigella* Ágar (SS) e Bismuth Sulfite Ágar (BSA) para *Salmonella* sp. e a contagem de aeróbias mesófilas foi realizada através da técnica do *Pour Plate* utilizando Plate Count Ágar (PCA). Foram incubadas a 37 °C por 24h, posteriormente feita a contagem de colônias no contador de colônias. Todos os resultados foram expressos em UFC g<sup>-1</sup>.

### **9.9 Análise estatística**

Os dados obtidos foram expressos como média ± desvio padrão, utilizando-se uma média de três repetições, submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com nível de confiança de significância de 5%.

## **10 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **10.1 Composição dos óleos essenciais**

No óleo essencial de gengibre foram encontrados 18 compostos (97,90%), destacam-se os monoterpenos geranial (22,33%) e neral (18,15%) como os compostos majoritários (Tabela 1). Os compostos principais identificados por Ataide et al. (2020) no óleo essencial de gengibre foram:  $\alpha$ -zingibreno (17,21%) e geranial (16,46%). Já Pinheiro et al. (2017) encontrou geranial (18,79%),  $\gamma$ -amorfeno (10,38%), canfene (9,98%), neral (9,90%). Variações na composição

química dos óleos essenciais oriundos dessa espécie podem ser decorrentes da composição genética, idade da planta e diferentes métodos de extração (SILVA et al., 2018).

**Tabela 1 - Composição química dos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Zingiber officinale***

Compostos	<sup>1</sup> IK <sub>calc</sub>	<sup>2</sup> IK <sub>lit</sub>	Área (%)	
			<i>Z. officinale</i>	<i>S. aromaticum</i>
$\alpha$ -Pino	940	939	3,28	-
Canfeno	951	954	5,67	-
$\beta$ -Pino	982	980	0,46	-
Mirceno	990	990	1,35	-
$\beta$ -Felandreno	1034	1031	6,04	-
1,8-Cineol	1036	1033	9,86	-
Lilenol	1099	1098	0,42	-
Citronelal	1154	1153	0,80	-
Borneol	1173	1166	0,53	-
E-Isocitral	1182	1180	0,21	-
Neral	1246	1238	18,15	-
Geraniol	1259	1252	6,19	-
Geranial	1275	1267	22,33	-
Eugenol	1364	1359	-	62,81
$\alpha$ -Copaene	1380	1376	-	0,37
Acetato de geranila	1394	1381	5,05	-
$\beta$ -Cariofileno	1424	1419	-	30,55
$\alpha$ -Cariofileno	1458	1454	-	2,54
$\gamma$ -Murolo	1480	1479	-	0,07
$\alpha$ -Curcumeno	1485	1483	3,83	-
$\alpha$ -zingibereno	1497	1493	2,20	-
(E,E)- $\alpha$ - Farneseno	1510	1508	7,19	-

$\beta$ -Sesquifelandreno	1527	1521	4,34	-
$\delta$ -Cadineno	1527	1523	-	0,03
Acetato de chavibetol	1534	1525	-	3,49
<b>Total identificado</b>	-	-	<b>97,90</b>	<b>99,86</b>

Fonte: Elaborada pelo autor.

$^1IK_{cal}$  = Índice de Kovats calculado  $^2IK_{lit}$  = Índice de Kovats literatura

No óleo essencial de cravo-da-índia foram identificados apenas 7 constituintes, totalizando 99,86% dos compostos identificados, sendo os componentes majoritários o fenilpropanoide eugenol (62,81%) e o sesquiterpeno  $\beta$ -cariofileno (30,55%). Gomes e colaboradores (2018), mostraram eugenol (52,53 %), e o cariofileno (37,25 %). Radünz et al. (2019) eugenol (56,06) e cariofileno (39,63), os autores encontram compostos semelhantes aos obtidos nesse estudo. Outros fatores que também podem influenciar na composição e concentração dos compostos são precipitação pluviométrica, condições climáticas, do tipo de solo, das épocas de colheita, coleta sazonal, ontogênese vegetal, localização geográfica, partes da planta da utilizadas (CHAN et al., 2016; RIBEIRO et al., 2019b).

## 10.2 Concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima

Observa-se que os óleos essenciais de cravo-da-índia e gengibre foram eficazes frente as três bactérias estudadas, apresentando potencial bacteriostático e também bactericida (Tabela 2). Trabalho realizado por Radünz et al. (2019) com óleo essencial de *S. aromaticum* obtiveram resultados inferiores aos dessa pesquisa, mostrando concentrações de CIM e CBM de 0,304 mg/mL para *E. coli* e *S. aureus*. Silvestri et al. (2010) encontraram CIM semelhante para *E. coli* de 0,600 mg/mL e inferiores para *S. aureus* de 0,300 mg/mL. Bellik (2014) ao pesquisar a atividade antimicrobiana do óleo de gengibre, observou resultados de CIM muito superiores ao atual, de 8,69 e 173,84 mg/mL para *S. aureus* e *E. coli*, respectivamente. A atividade dos óleos é atribuída aos seus compostos majoritários, então a diferença de potencial antimicrobiano pode estar relacionada a composição química dos óleos essenciais (BORBOREMA et al., 2022).

**Tabela 2 - Concentração Inibitória Mínima e Concentração Bactericida Mínima dos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Zingiber officinale* frente as cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp.**

Espécies	<i>Syzygium aromaticum</i>		<i>Zingiber officinale</i>	
	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0,62	1,25	2,50	2,50
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1,25	1,25	1,25	2,50
<i>Salmonella</i> sp.	1,25	1,25	2,50	-

Fonte: Elaborada pelo autor.

CIM: Concentração Inibitória Mínima; CBM: Concentração Bactericida Mínima

O mecanismo de ação dos óleos essenciais deve-se aos seus compostos hidrofóbicos, que podem interagir com a parte lipofílica da membrana bacteriana e mitocôndrias isoladas, interrompendo funções como transporte de elétrons, absorção de nutrientes, síntese de proteínas e atividade enzimática (BAJPAI et al., 2009; MARTÍNEZ et al., 2014). Vale ressaltar que o óleo de cravo-da-índia, mostrou-se mais eficaz contra o microrganismo Gram-negativo *E. coli*. A presença do eugenol e  $\beta$ -cariofileno constituintes principais do óleo de cravo, que juntos correspondem a 93,36% da sua composição total são responsáveis por sua atividade antimicrobiana, principalmente frente a bactérias Gram-negativas (ANWER et al., 2014; ZHANG et al., 2016).

### 10.3 Análise física

A CRA é a capacidade da carne *in natura* de reter água durante o processamento ou aplicação de forças externas, um dos parâmetros mais usados para analisar a qualidade da carne, pois está relacionada com o tipo de fibra muscular, no caso da carne suína, há predominância de fibras glicolíticas, ou seja, esses animais utilizam glicose como principal fonte de energia (BRACCCINI et al., 2021). Observa-se que a CRA se mostrou elevada, apresentando pequenas variações entre os 28 dias de armazenamento (Tabela 3).

**Tabela 3 – Características físicas de linguiça toscana adicionada de óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Zingiber officinale* ao longo do armazenamento**

Variáveis	Dias					EPM*	Pr > F
	0	7	14	21	28		
CRA	72,200 <sup>ab</sup>	69,372 <sup>b</sup>	75,706 <sup>a</sup>	70,653 <sup>ab</sup>	67,590 <sup>b</sup>	0,25	0,0108
PPC	10,955 <sup>d</sup>	16,880 <sup>b</sup>	13,542 <sup>cd</sup>	15,727 <sup>bc</sup>	22,006 <sup>a</sup>	0,25	<0,0001
L*	63,524 <sup>a</sup>	59,590 <sup>c</sup>	63,598 <sup>a</sup>	61,080 <sup>b</sup>	62,018 <sup>b</sup>	0,25	<0,0001
a*	11,374 <sup>a</sup>	10,652 <sup>c</sup>	11,334 <sup>a</sup>	11,184 <sup>ab</sup>	10,906 <sup>bc</sup>	0,25	<0,0001
b*	20,782 <sup>b</sup>	18,668 <sup>c</sup>	21,894 <sup>a</sup>	20,386 <sup>b</sup>	20,816 <sup>b</sup>	0,25	<0,0001
pH	7,280 <sup>a</sup>	7,100 <sup>b</sup>	7,260 <sup>a</sup>	7,260 <sup>a</sup>	7,100 <sup>b</sup>	0,25	<0,0001

Fonte: Elaborada pelo autor.

EPM\* (Erro Padrão da Média); Pr>F (Probabilidade  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$ ); pH (Potencial Hidrogeniônico); CRA (Capacidade de Retenção de Água); L\* (Luminosidade); a\* (Intensidade de Verde e Vermelho); b\* (Intensidade de Amarelo e Azul); PPC (Perda de Peso por Cocção).

<sup>a, b, c</sup> Letras distintas na mesma linha indicam diferença pelo teste de Tukey a 5%

O tempo de armazenamento interferiu na PPC, expressando maior perda aos 28 dias ( $P < 0,05$ ). A PPC refere-se à exsudação de vários componentes solubilizados da carne pela água durante o aquecimento, visto que as fibras musculares encolhem por causa do processo de desnaturação térmica das proteínas musculares (VASKOSKA et al., 2021). A PPC está altamente correlacionada a suculência, fator muito importante para determinação da qualidade da carne suína, também possui relação inversa com a CRA (ZHENG et al., 2018). Como relatado nessa pesquisa

Quanto ao parâmetro cor, a luminosidade, L\*, foi afetada pelo armazenamento ( $P > 0,05$ ), obtendo o menor valor ao sétimo dia, contido ao final do período de armazenamento, L\* obteve valor de 62,018, indicando que o escurecimento no sétimo dia de armazenagem pode ter sido causado pela quebra da nitrosomioglobina durante uma maior exposição à luz (DAN; MENG 2013). A intensidade de a\*, sofreu influência do armazenamento, perdendo a intensidade a cor vermelha ao final dos 28 dias ( $P > 0,05$ ). A diminuição do valor de a\* pode ser causada pela oxidação lipídica, que escurece a cor geral dos produtos cárneos (ERGEZER; KAYA; ŞİMŞEK, 2018). Siripatrawan e Makino (2018), ao estudarem salsichas, descobriram que o valor a\* diminuiu durante 20 dias de armazenamento. A intensidade de b\*, ficou inalterada ao final do armazenamento, porém, até os 14 dias teve alteração da cor amarela. A

redução do amarelecimento deve-se a presença de compostos antioxidantes, nos óleos essenciais adicionados as linguiças. Valores mais baixos de b\* referem-se à carne menos pálida, preferida pelos consumidores (JIANG et al., 2014).

Os valores de pH das linguiças foram influenciados pelo tempo de armazenamento ( $P > 0,05$ ), mantendo-se constante entre os dias 14 e 21, reduzindo para 7,10, no 28º dia de armazenagem. A queda do pH pode estar relacionada com a acidificação do embutido, derivada da fermentação de açúcares (HAOUET et al., 2018).

#### 10.4 Análise química

Observa-se que todas as formulações estão dentro dos padrões de composição química exigidos pela legislação brasileira, que estabelece máximo 70% de umidade, 30% gordura e no mínimo 12% proteína IN nº 4/2000 (BRASIL, 2000), (Tabela 4). Maia Júnior et al. (2020) encontraram resultados semelhantes a esta pesquisa, ao estudarem as características físico-químicas de linguiça defumada ovina. Os valores obtidos para o teor de gordura e cinzas apresentaram uniformidade ( $P > 0,05$ ) entre as formulações analisadas. Para umidade e proteínas as formulações incorporadas com óleo essencial também não diferiram da formulação controle, evidenciando que a presença dos óleos essenciais não interferiu nesses parâmetros.

**Tabela 4 – Composição química de linguiça toscana adicionada de óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Zingiber officinale***

Variáveis (%)	Inclusão de óleos essenciais de cravo e gengibre (%)					EPM*	Pr>F
	0%	C0,1%	C0,2%	G0,2%	G0,4%		
Umidade	63,748 <sup>ab</sup>	65,302 <sup>a</sup>	63,560 <sup>ab</sup>	63,970 <sup>ab</sup>	63,2963 <sup>b</sup>	0,09	0,0478
Cinzas	4,372	4,392	4,648	4,441	4,206	0,10	0,7355
Proteína	17,538 <sup>a</sup>	17,329 <sup>a</sup>	16,403 <sup>ab</sup>	16,034 <sup>b</sup>	16,431 <sup>ab</sup>	0,09	0,0099
Gordura	11,143	11,057	10,035	11,362	11,086	0,09	0,0644

Fonte: Elaborada pelo autor.

EPM\* (Erro Padrão da Média); Pr>F (Probabilidade  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$ ; 0% (Controle); C0,1% (Cravo 0,1%); C0,2% (Cravo 0,2%); G0,2% (Gengibre 0,2%) e G0,4% (Gengibre 0,4%)

<sup>a, b</sup> Letras distintas na mesma linha indicam diferença pelo teste de Tukey a 5%

## 10.5 Análise sensorial

A adição dos óleos essenciais não mostrou diferença ( $P>0,05$ ), em relação ao aroma, cor, avaliação global e intenção de compra (Tabela 5). Portanto, a incorporação dos óleos essenciais de cravo-da-índia e gengibre não tiveram influência negativa sobre esses atributos. A cor e o aroma são duas das características físicas mais importantes para a aceitação de um produto entre os consumidores, podendo ser facilmente alterada modificando a quantidade de ingredientes não cárneos na formulação (SYUHAIKRAH et al., 2016).

**Tabela 5 – Características sensoriais de linguça toscana adicionadas de óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Zingiber officinale***

Atributos sensoriais		Inclusão de óleos essenciais (%)					EPM	Pr>F
		0%	C0,1%	C0,2%	G0,2%	G0,4%		
Aroma	normal	5,721	5,281	5,515	5,762	5,234	0,004	0,0162
Cor	normal	5,853	5,603	5,615	5,762	5,493	0,004	0,4026
	estranha	2,0813	2,0750	2,050	2,196	2,306	0,004	0,5076
Sabor	normal	5,412	5,475	5,281	5,893	5,353	0,004	0,1750
	estranho	1,740	1,981	2,168	2,178	1,887	0,004	0,4207
	salgado	4,318 <sup>bc</sup>	5,162 <sup>ab</sup>	4,006 <sup>c</sup>	5,596 <sup>a</sup>	4,612 <sup>a</sup>	0,004	<0,0001
	apimentado	3,709 <sup>ab</sup>	4,312 <sup>a</sup>	3,168 <sup>b</sup>	4,100 <sup>ab</sup>	3,440 <sup>ab</sup>	0,004	0,0029
Maciez	suculência	6,440 <sup>ab</sup>	5,893 <sup>ab</sup>	5,665 <sup>b</sup>	6,606 <sup>a</sup>	5,971 <sup>ab</sup>	0,004	0,0012
	textura	5,756 <sup>ab</sup>	5,406 <sup>ab</sup>	5,109 <sup>b</sup>	5,928 <sup>a</sup>	5,628 <sup>ab</sup>	0,004	0,0196
Avaliação global		5,296	4,681	5,075	4,853	4,950	0,004	0,3516
Intenção de compra		4,395	4,020	4,104	4,083	4,187	0,004	0,3559

Fonte: Elaborada pelo autor.

EPM\* (Erro Padrão da Média); Pr>F (Probabilidade  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$ ; 0% (Controle); C0,1% (Cravo 0,1%); C0,2% (Cravo 0,2%); G0,2% (Gengibre 0,2%) e G0,4% (Gengibre 0,4%).

<sup>a, b, c</sup> Letras distintas na mesma linha indicam diferença pelo teste de Tukey a 5%

A cor, aroma e avaliação global apresentaram valores de escores de aproximadamente 5,5, 5,7 e 5,0, respectivamente, de acordo com a escala hedônica que varia de 0 a 10 cm. Apresentando boa aceitação dos consumidores. Estudo realizado por Araújo et al. (2018), com

linguiça mista incorporada com óleo essencial de alho obtiveram para cor e aroma escores de 6,7 e 6,1, respectivamente. A intenção de compra não foi afetada pela inclusão dos óleos essenciais ( $P>0,05$ ), sendo julgada moderada, com média de 4,2, valor designado (compraria ocasionalmente), em escala de 1 a 7.

Para o parâmetro sabor, houve diferença significativa ( $P>0,05$ ), nos atributos salgado e apimentado. A linguiça produzida com 0,2% de óleo de cravo-da-índia apresentou menor percepção do sabor salgado, em comparação as formulações produzidas com óleo essencial de gengibre, possivelmente pela presença do eugenol, que tem sabor mais adocicado e se encontra em maior concentração nesse tratamento. Já para o atributo sabor apimentado não houve diferença ( $P>0,05$ ), entre os dois óleos utilizados, apenas em relação as concentrações de cravo-da-índia, mostrando que o C0,1% foi considerado mais apimentado que o C0,2%. Provavelmente a presença do óleo essencial de cravo-da-índia em maior concentração, paliou o sabor da pimenta presente da formulação das linguiças.

Para os parâmetros maciez e textura as amostras produzidas com óleo essencial apresentaram diferença ( $P<0,05$ ). As formulações C0,2% < G0,2%, tanto na maciez quanto na textura. Possivelmente a picância do óleo essencial de gengibre influenciou o aumento da produção de saliva, ajudando a amaciar a carne, tornando-a fácil de ser mastigada, aumentando assim, a sensação de maciez e suculência. Portanto a adição dos óleos essenciais influenciou na textura e suculência das linguiças.

## 10.6 Análise microbiológica

A pesquisa de *Salmonella* sp. em linguiças com inclusão dos óleos essenciais de *S. aromaticum* e *Z. officinale*, bem como durante o armazenamento foi negativa (Tabela 6), enquanto que a contagem de *E. coli* e mesófilos foi significativa em ambos os casos ( $P<0,05$ ). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) IN nº 60/2019, estabelece padrões máximo de  $10^6$  para bactérias aeróbios mesófilos,  $5 \times 10^3$  para *Escherichia coli* e ausência de *Salmonella* sp., dessa forma todas as linguiças produzidas estão dentro dos limites estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2019b). Observa-se que houve redução constante dos valores de UFC/g de acordo com os dias de armazenamento, esses resultados podem ser atribuídos a presença dos óleos essenciais nas formulações de linguiça, que têm ação antimicrobiana frente a esses microrganismos, reduzindo ou inibindo seu crescimento.

**Tabela 6 - Qualidade microbiológica de linguiça contendo óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* e *Zingiber officinale***

Dias	Variáveis		
	<i>E. coli</i> (UFC/g)	Mesófilos (UFC/g)	<i>Salmonella</i> sp.
1	3,8x10 <sup>a</sup>	4,2x10 <sup>a</sup>	Ausente
7	2,7x10 <sup>a</sup>	2,2x10 <sup>ab</sup>	Ausente
14	2,6x10 <sup>ab</sup>	1,8x10 <sup>b</sup>	Ausente
21	6,0 <sup>b</sup>	1,1x10 <sup>b</sup>	Ausente
EPM*	0,25	0,25	
Pr>F	<0,001	<0,001	
Inclusão OE (%)	Variáveis		
	<i>E. coli</i> (UFC/g)	Mesófilos (UFC/g)	<i>Salmonella</i> sp.
0	3,6x10 <sup>a</sup>	3,5x10 <sup>a</sup>	Ausente
C0,1	2,1x10 <sup>b</sup>	1,9x10 <sup>b</sup>	Ausente
C0,2	1,0x10 <sup>c</sup>	1,3x10 <sup>b</sup>	Ausente
G0,2	3,2x10 <sup>a</sup>	3,1x10 <sup>a</sup>	Ausente
G0,4	2,3x10 <sup>b</sup>	2,0x10 <sup>b</sup>	Ausente
R <sup>2</sup>	0,97	0,99	
Pr>F	<0,001	<0,001	

Fonte: Elaborada pelo autor.

EPM\* (Erro Padrão da Média); Pr>F (Probabilidade  $F_{\text{calculado}} > F_{\text{tabelado}}$ ; UFC (Unidade Formadora de Colônia); OE (Óleo Essencial). 0% (Controle); C0,1% (Cravo 0,1%); C0,2% (Cravo 0,2%); G0,2% (Gengibre 0,2%) e G0,4% (Gengibre 0,4%)

<sup>a, b, c</sup> Letras distintas na mesma coluna indicam diferença pelo teste de Tukey a 5%

A inclusão de 0,1% e 0,2% de óleo essencial de cravo-da-índia reduziu a presença de *E. coli* para 2,1x10 UFC/g e 1,0x10 UFC/g, respectivamente. Já o óleo essencial de gengibre não diferiu ( $P < 0,05$ ) do controle na concentração de 0,2%, no entanto, em 0,4% reduziu a contagem para 2,3x10 UFC/g. Portanto, a inclusão do óleo essencial de cravo-da-índia, nas duas concentrações utilizadas foi mais eficiente que o óleo essencial de gengibre ( $P < 0,05$ ), para *E. coli*. Em relação as bactérias aeróbias mesófilas o óleo de cravo-da-índia reduziu a contagem microbiana, porém não apresentou diferença ( $P < 0,05$ ) para as concentrações de 0,1 e 0,2%. O

óleo de gengibre apresentou resultados semelhantes aos de *E. coli*, inibindo o crescimento apenas em 0,4% ( $P < 0,05$ ). Dessa forma, as duas concentrações do óleo essencial de cravo-da-índia e a 0,4% de óleo essencial de gengibre foram eficazes para bactérias aeróbias mesófilas.

Pode-se inferir que óleo essencial de cravo-da-índia 0,1 e 0,2% incorporado na linguiça tem potencial antimicrobiano frente a *E. coli* e aeróbias mesófilas, sendo mais eficaz que o óleo essencial de gengibre, visto que este, necessita de concentrações quatro vezes maior para exercer a mesma atividade. Lages et al. (2021) avaliando as características microbiológicas de linguiça, utilizando óleo essencial de tomilho na concentração de 0,95% foi eficaz frente a aeróbias mesófilas e *E. coli*. Araújo et al. (2018) também observou redução de *E. coli* trabalhando com óleo essencial de alho na concentração de 125  $\mu\text{L}/\text{kg}$ .

## 11 CONCLUSÃO

A presença dos óleos essenciais de cravo-da-índia e gengibre nas linguiças, não compromete seus aspectos físico-químicos, mostram-se eficazes na redução do crescimento de bactérias aeróbias mesófilas e *E. coli*, principalmente o óleo essencial de cravo-da-índia por agir em menor concentração. A avaliação sensorial revela-se aceitável para os provadores. Portanto, ambos os óleos essenciais avaliados mostram potencial para utilização como conservantes naturais em embutidos cárneos, sendo promissores para substituir os conservantes sintéticos, com o intuito de oferecer alimentos mais seguros ao consumidor.

## FILME DE ALGINATO DE SÓDIO E CELULOSE BACTERIANA INCORPORADO COM ÓLEO ESSENCIAL DE *Syzygium aromaticum* DESTINADO A EMBALAGEM DE EMBUTIDOS CÁRNEOS

### RESUMO

Os embutidos cárneos são alimentos muito susceptíveis à contaminação por microrganismos patogênicos e deteriorantes. Filmes contendo agentes antimicrobianos são uma proposta atraente para utilização na conservação desses alimentos, os óleos essenciais são antimicrobianos naturais que podem ser incorporados aos filmes ativos de embalagem, são considerados promissores para a conservação de alimentos. Objetivou-se produzir e analisar filme de alginato de sódio e celulose bacteriana, incorporado com óleo essencial de *Syzygium aromaticum* destinado a embalagem de embutidos cárneos. A composição do óleo essencial foi determinada por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas e ao detector de ionização em chama e a atividade antimicrobiana pelo método de microdiluição em caldo frente as cepas ATCC de *S. aureus*, *E. coli* e um isolado clínico de *Salmonella* sp. A metodologia de superfície de resposta, foi realizada utilizando o delineamento Box-Behnken, para definir a formulação do filme contendo óleo essencial *S. aromaticum*, utilizando as variáveis independentes alginato de sódio (X1), glicerol (X2) e celulose bacteriana (X3) e as variáveis dependentes, permeabilidade ao vapor de água e espessura. O eugenol (62,81%) é o principal composto presente no óleo essencial. Apresentou atividade antimicrobiana contra todas as cepas testadas, nas concentrações entre 0,625 e 2,500 mg/mL. O filme contendo 3,25% alginato, 4,00% glicerol e 0,10% de CB foi o escolhido para incorporação do óleo essencial de *S. aromaticum*, tendo apresentado atividade antimicrobiana contra todas as cepas testadas. O filme produzido com óleo essencial de *S. aromaticum* mostra-se promissor para ser utilizado na conservação dos em embutidos cárneos.

**Palavras chave:** Embalagem ativa; glicerol; filme biodegradável; *E. coli*

### ABSTRACT

Meat sausages are foods that are very susceptible to contamination by pathogenic and spoilage microorganisms. Films containing antimicrobial agents are an attractive proposal for use in preserving these foods. Essential oils are natural antimicrobials that can be incorporated into active packaging films and are considered promising for food preservation. The objective was

to produce and analyze sodium alginate and bacterial cellulose film, incorporated with *Syzygium aromaticum* essential oil for packaging meat sausages. The composition of the essential oil was determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry and flame ionization detector and the antimicrobial activity by the broth microdilution method against ATCC strains of *S. aureus*, *E. coli* and a clinical isolate of *Salmonella* sp. The response surface methodology was carried out using the Box-Behnken design, to define the formulation of the film containing *S. aromaticum* essential oil, using the independent variables sodium alginate (X1), glycerol (X2) and bacterial cellulose (X3) and the dependent variables, water vapor permeability and thickness. Eugenol (62.81%) is the main compound present in the essential oil. It showed antimicrobial activity against all strains tested, at concentrations between 0.625 and 2.500 mg/mL. The film containing 3.25% alginate, 4.00% glycerol and 0.10% CB was chosen for incorporating *S. aromaticum* essential oil, having shown antimicrobial activity against all strains tested. The film produced with *S. aromaticum* essential oil shows promise for use in the conservation of meat sausages.

**Keywords:** Active packaging; glycerol; biodegradable film; *E. coli*

## 12 INTRODUÇÃO

Os embutidos cárneos são ricos em proteínas e gorduras, sendo propensos à contaminação por microrganismos patogênicos e deteriorantes, em todas as fases da cadeia produtiva, principalmente durante o armazenamento, causando alterações indesejáveis como descoloração, redução da vida útil e perda de nutrientes, além da diminuição da qualidade alimentar e potenciais danos à saúde humana. Dessa forma, se faz necessário o desenvolvimento de novos e eficazes métodos de conservação para prolongar a vida de prateleira dos produtos cárneos (ZHANG et al., 2023).

Neste sentido, os filmes contendo agentes ativos (como compostos antioxidantes e antimicrobianos) são uma proposta atraente para utilização na conservação desses alimentos, pois podem interagir com o produto alimentício, para proteger, prolongar a vida útil e preservar as propriedades sensoriais (aparência, aroma, textura e sabor) (UMARAW et al., 2020). Atuando também nos processos alimentares, como alterações fisiológicas (respiração), químicas (oxidação de gorduras), físicas e microbiológicas (NAIR et al., 2020, OLIVEIRA FILHO et al., 2021).

Os óleos essenciais são antimicrobianos naturais que podem ser incorporados aos filmes ativos de embalagem, são considerados “Geralmente Reconhecidos como Seguros” (GRAS) pelo FDA, sendo, portanto, candidato promissor para conservação de alimentos (HAGHIGHI et al., 2019), visto sua capacidade de reduzir e/ou eliminar os microrganismos, melhorando as propriedades organolépticas do produto e, conseqüentemente, prolongando sua vida útil (AHMED; MULLA; ARFAT, 2016). O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) é bastante utilizado na culinária popular, seu óleo essencial apresenta atividade antimicrobiana, inibindo microrganismos associados a deterioração de alimentos e bactérias patogênicas, como *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* (ZHANG et al., 2017; CUI et al., 2018; ANACARSO et al., 2019).

Os filmes são embalagens à base de biopolímeros que podem ser consumidas juntamente com alimentos. Dentre os biopolímeros usados na produção de filmes ativos, temos o alginato de sódio, que são polissacarídeos de algas marinhas, esses estão cada vez mais atraindo a atenção como matérias-primas para o desenvolvimento de filmes, devido à sua natureza segura e biodegradável. São excelentes para a conservação de alimentos; entretanto, não conseguem preservar os alimentos com alto teor de água. Portanto, a utilização de substâncias hidrofóbicas atua melhorando as propriedades do filme, para a preservação de alimentos com alto teor de umidade. Além disso, podem aprimorar várias funções dos materiais poliméricos, como as propriedades de barreira, propriedades mecânicas, aspecto visual, etc (SOUZA et al., 2019).

A celulose bacteriana (BC) é outro biopolímero de grande potencial, que também pode ser adicionado aos filmes para melhorar suas propriedades. Visto sua capacidade de retenção de água, boa conformabilidade e excelente resistência mecânica (YANG et al., 2012). O presente estudo objetivou produzir e analisar filme de alginato de sódio e celulose bacteriana, incorporado com óleo essencial de *Syzygium aromaticum* destinado a embalagem de embutidos cárneos.

## **13 MATERIAL E MÉTODOS**

### **13.1 Extração do óleo essencial**

Os botões florais de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) foram obtidos no Mercado Público de Sobral – CE, e utilizados como matéria-prima para a extração do óleo essencial, através do método de hidrodestilação durante 4 horas em um aparelho do tipo Clevenger, o óleo

essencial de cravo-da-índia (OEC) foi armazenado em frasco de vidro âmbar bem selado e mantidos sob-refrigeração, para posteriores análises. O rendimento foi calculado segundo a equação 1:

$$R(\%) = \frac{M_{\text{óleo}}}{M_{\text{planta}}} \times 100$$

R (%) = rendimento da produção de óleo essencial;

$m_{\text{óleo}}$  = massa de óleo obtida (g);

$m_{\text{planta}}$  = massa dos botões florais (g).

### 13.2 Análise da composição do óleo essencial

#### 13.2.1 Cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM):

A análise qualitativa do OEC foi realizada por CG-EM utilizando um instrumento Agilent modelo GC-7890B/MSD-5977A, com impacto de elétrons a 70 eV, coluna HP-5MS metilpolissiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ , Agilent), gás carreador hélio com fluxo 1,00 mL.min<sup>-1</sup> (8,8 psi) e velocidade linear constante de 36,8 cm.s<sup>-1</sup>, temperatura do injetor, do detector e da linha de transferência de 250, 150 e 280 °C, respectivamente. Programação do forno cromatográfico: temperatura inicial de 70 °C, com rampa de aquecimento de 4 °C.min<sup>-1</sup> a 180 °C com acréscimo de 10 °C/min até 250 °C ao término da corrida (34,5 min). A identificação dos compostos foi realizada pela análise dos padrões de fragmentação exibidos nos espectros de massas com aqueles presentes na base de dados fornecidos pelo equipamento (NIST versão 2.0 de 2012 – 243.893 compostos) e de dados da literatura.

#### 13.2.2 Cromatografia em fase gasosa acoplada ao detector de ionização em chama (CG-DIC):

A análise quantitativa foi determinada por CG-DIC utilizando um instrumento Shimadzu modelo CG-2010 Plus, coluna RTX-5 metilpolissiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ), modo de injeção com divisão de fluxo 1:30, gás carreador nitrogênio com fluxo 1,00 mL.min<sup>-1</sup> (84,1 kPa) e velocidade linear constante de cm.s<sup>-1</sup>, temperatura do injetor e do detector de 250 e 280 °C, respectivamente. Programação do forno cromatográfico: temperatura inicial de 70 °C com rampa de aquecimento de 4 °C.min<sup>-1</sup> a 180 °C por 27,5 min, seguida por rampa de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup> a 250 °C, ao término da corrida (34,5 min). A identificação dos compostos foi realizada através da comparação dos seus índices de retenção com os de compostos conhecidos,

obtidos por injeção de uma mistura de padrões contendo uma série homóloga de alcanos C<sub>7</sub>-C<sub>30</sub>, e de dados da literatura.

### 13.3 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM do OEC foi determinada pela técnica de microdiluição em caldo, testado contra uma cepa Gram-negativa: ATCC- *American Type Culture Collection, Escherichia coli* 25922 e duas Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Salmonella* sp. um isolado clínico da Biolab clínica. O inóculo foi preparado com concentração de aproximadamente 10<sup>8</sup> UFC/mL, ajustado de acordo com a solução padrão de McFarland. A análise foi realizada em placas de 96 poços, onde foram realizadas diluições seriadas de 2500 µg/mL a 2 µg/mL de OEC preparado em caldo Brain Heart Infusion (BHI) diluído em tween 80 2%. O meio de cultura isolado foi utilizado como controle negativo, enquanto o meio de cultura juntamente com o inóculo bacteriano foi utilizado para o controle positivo. A análise foi realizada em triplicata e as placas colocadas em estufa a 37 °C por 24 horas. A leitura foi realizada no leitor de ELISA com absorvância de 620 nm (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2015).

### 13.4 Concentração Bactericida Mínima (CBM)

A CBM foi realizada somente com cepas que apresentaram sensibilidade na CIM, sendo retirada 10 µL da solução de poços sem turbidez e adicionado em ágar BHI, incubados a 37 °C por horas. O CBM foi considerado como a menor concentração ausente de crescimento bacteriano após 24 horas exposição ao OEC em diferentes concentrações (SFM ANTIBIOGRAM COMMITTEE COMITÊ, 2003).

### 13.5 Produção e purificação da celulose bacteriana

A membrana SCOBY foi fermentada em chá de *Camellia sinensis* (chá-verde) adoçado com sacarose, em concentrações de 2,5% (m/v) e 7,0% (m/v), respectivamente. Para a preparação do meio fermentativo, a mistura foi aquecida até 100 °C e permaneceu em repouso por 10 minutos para a infusão do chá-verde. Em seguida, foi feita a filtração do extrato. As membranas SCOBY foram cultivadas em B.O.D a 30 °C por 10 dias, até atingir tamanho e espessura desejáveis. A purificação das membranas de BC foi realizada a partir da imersão em água a 100 °C por 1 h (duas vezes) e em NaOH 2% m/v a 80 °C por 1 h (duas vezes). Após o processo de

purificação, as membranas foram lavadas em água destilada até pH -7,0 (PEREIRA et al., 2020).

### 13.6 Delineamento experimental

A metodologia de superfície de resposta (MSR), foi realizada utilizando o delineamento Box-Behnken (BBD), aplicada para otimizar a influência dos parâmetros na produção do filme de alginato de sódio. As variáveis independentes estudadas foram, polímero: alginato de sódio ( $X_1$ ), plastificante: glicerol ( $X_2$ ) e celulose bacteriana ( $X_3$ ), as variáveis dependentes (respostas) foram permeabilidade ao vapor de água e espessura. A Tabela 7 apresenta o delineamento com três repetições no ponto central, totalizando 15 ensaios experimentais.

**Tabela 7 - Variáveis independentes e ensaios experimentais de BBD para formulações de filme**

Ensaio	Variáveis codificadas			Variáveis reais (%)		
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	Alginato	Glicerol	Celulose Bacteriana
1	-1	0	-1	2,50	6,0	0,10
2c	0	0	0	3,25	6,0	0,55
3	1	0	1	4,00	6,0	1,00
4	0	-1	-1	3,25	4,0	0,10
5	1	-1	0	4,00	4,0	0,55
6	-1	0	1	2,50	6,0	1,00
7	0	1	-1	3,25	8,0	0,10
8c	0	0	0	3,25	6,0	0,55
9	0	1	1	3,25	8,0	1,00
10	1	0	-1	4,00	6,0	0,10
11	-1	1	0	2,50	8,0	0,55
12	0	-1	1	3,25	4,0	1,00
13c	0	0	0	3,25	6,0	0,55
14	-1	-1	0	2,50	4,0	0,55
15	1	1	0	4,00	8,0	0,55

Fonte: Elaborada pelo autor.

(c): Ponto central

### 13.7 Preparação dos filmes

Os filmes foram desenvolvidos no Laboratório de Embalagens da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), onde foram produzidos três filmes: alginato de sódio e glicerol (A), alginato de sódio, glicerol e celulose bacteriana (AC) e alginato de sódio, glicerol, celulose bacteriana e óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (ACO). Nas concentrações: alginato de sódio (3,25% m/v), glicerol (4,00% m/v), celulose bacteriana (0,10% v/v) e óleo essencial (1,5% m/v). Os filmes foram produzidos de acordo com a técnica de *casting*. Para preparação da solução filmogênica o alginato de sódio foi diluído em água destilada e mantido sob agitação e temperatura constante, por 1 hora a 70 °C e 500 rpm, o procedimento foi realizado em agitador magnético (Tecnal, TE-139, Brasil). A solução foi resfriada a 40 °C e adicionado o glicerol, para o filme ACO colocou-se também o óleo essencial, em seguida, agitada em Ultra-turrax T-50 (IKA) à 7.000 rpm por 1 min. Posteriormente, adicionou-se celulose bacteriana nas soluções ACO e AC, as quais foram agitadas novamente por mais 2 min.

Cerca de 50 mL das soluções filmogênicas foram vertidas em espessura úmida de 1,0 mm, sobre a base de poliéster-Mylar® fixo em moldura de vidro com largura e comprimento 30 cm x 45 cm. Logo após, foram reticuladas em solução de cloreto de cálcio (3% m/v) por 30 seg. Os filmes foram secos a temperatura ambiente por 24 h.

### 13.8 Ensaio antimicrobiano

Para determinar a atividade antimicrobiana do filme ACO foi empregado o método de disco-difusão descrito por Silva et al. (2019), testado frente as bactérias citadas anteriormente. O inóculo foi preparado com concentração de aproximadamente  $10^8$  UFC/mL, ajustado de acordo com a escala padrão de McFarland. Placas de Petri contendo meio ágar BHI foram inoculadas com uma alíquota 100 µL da suspensão bacteriana. Em seguida, discos do filme ACO com 10 mm de diâmetro, foram transferidos para a superfície da placa de Petri, e colocadas em estufa à 35 °C por 24 h e após este período mediu-se o halo de inibição com o auxílio de uma régua.

### **13.9 Caracterização dos filmes**

#### **13.9.1 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)**

O teste de permeabilidade ao vapor de água foi realizado de acordo com o método E96-0 (STANDARD TEST METHOD, 2000), em que amostras de filmes em formato de disco (30 mm) foram seladas entre os encaixes das células de permeação, contendo 2mL de água destilada, as quais foram colocadas em dessecador vertical (ARSEC DCV-040) com circulação de ar, à 25 °C com UR de 30 %  $\pm$  2 %, por aproximadamente 24 horas e pesadas 8 vezes ao longo do tempo. Foram feitas 5 repetições para cada tratamento. Os valores de perda de peso foram calculados em função do tempo. O PVA é a permeabilidade ao vapor de água ( $\text{g} \cdot \text{mm}/\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{kPa}$ );  $g$  é o ganho de peso dos filmes;  $t$  é o tempo total em horas;  $A$  é a área de permeação ( $\text{m}^2$ );  $e$  espessura média dos filmes (mm);  $\Delta P$  é a diferença de pressão de vapor do ambiente contendo sílica gel (kPa, 25 °C);  $g/t$  foi calculada por regressão linear entre os pontos de ganho de peso e tempo (regime permanente).

#### **13.9.2 Espessura**

As espessuras dos filmes foram medidas através de micrômetro (Mitutoyo Mfg. Co. Ltd., Kawasakishi, Kanagawa, Japão). As medidas foram realizadas aleatoriamente em oito posições diferentes. O valor de espessura foi expresso pela média dessas medidas.

### **13.10 Análise estatística**

As análises experimentais foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e estas submetidas a Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey de comparações múltiplas foi realizada com nível de significância de 5% usando o programa estatístico Statistic® versão 12.

## **14 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **14.1 Composição química e rendimento do óleo essencial**

O rendimento foi calculado a partir da quantidade de óleo que se obteve com uma determinada massa do vegetal. Como nesse experimento, partiu-se de uma massa de 492,00 g dos botões florais secos do cravo-da-índia e obteve-se em média 19,61 g de óleo essencial, o rendimento m/m foi de 3,99%, sendo considerado pela literatura como bom rendimento.

Drawanz et al. (2020), obteve rendimento de apenas 1,7%, utilizando o método de hidrodestilação, rendimento menor que o obtido nesse estudo. Já Mendes; Barros e Aguiar (2021) e Selles et al. (2020), encontraram resultados superiores de 5,1% e 11,6%, respectivamente. Alguns fatores como época de colheita, origem geográfica e técnica de extração, podem influenciar na diferença de rendimento do óleo essencial (NANA et al., 2015). O rendimento de extração aumenta diminuindo o tamanho de partícula de cravo-da-índia (GUAN et al., 2007), esse fator pode ser sido determinante para o resultado obtido no presente trabalho, visto que, o cravo-da-índia não foi submetido ao processo de moagem.

Os principais compostos presentes no óleo essencial de *S. aromaticum* incluem eugenol (62,81%),  $\beta$ -cariofileno (30,55%), acetato de chavibetol (3,49%) e  $\alpha$ -cariofileno (2,54%), (Tabela 8). No geral foram identificados sete constituintes, totalizando 99,86% de compostos. O eugenol e  $\beta$ -cariofileno foram as principais moléculas identificadas.

**Tabela 8 - Composição química do óleo essencial de *Syzygium aromaticum***

Compostos	<sup>1</sup> IK <sub>calc</sub>	<sup>2</sup> IK <sub>lit</sub>	<i>S. aromaticum</i>
			Área (%)
Eugenol	1364	1359	62,81
$\alpha$ -Copaene	1380	1376	0,37
$\beta$ -Cariofileno	1424	1419	30,55
$\alpha$ -Cariofileno	1458	1454	2,54
$\gamma$ -Muroleno	1480	1479	0,07
$\delta$ -Cadineno	1527	1523	0,03
Acetato de chavibetol	1534	1525	3,49
Total identificado	-	-	99,86

Fonte: Elaborada pelo autor.

<sup>1</sup>IK<sub>calc</sub>= Índice de Kovats calculado <sup>2</sup>IK<sub>lit</sub>= Índice de Kovats literatura

Os resultados são semelhantes a outros estudos que relataram esses compostos, como Kiki (2023), que identificou eugenol (76,78%) e  $\beta$ -cariofileno (21,24%). Oliveira et al. (2016) e Akansha et al. (2023), também encontraram eugenol como principal constituinte, com 62,88% e 68,64%, respectivamente. A composição química do óleo essencial de *S. aromaticum* pode

ser influenciada por vários fatores incluindo, condições ambientais, genótipos, período de colheita, origem geográfica, local, temperatura e duração da secagem e pelo método de extração (SOKAMTE; JAZET; TATSADJIEU, 2016).

#### 14.2 Concentração inibitória mínima e Concentração bactericida mínima

Observou-se, ao utilizar o óleo essencial de *S. aromaticum*, potencial inibitório contra todas as espécies bacterianas testadas, com CIM variando de 1,25 mg/mL a 0,62 mg/mL, e destaque para *E. coli* que apresentou maior susceptibilidade (Tabela 9). Estudos anteriores realizados com o óleo *S. aromaticum* frente a diferentes espécies de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas mostraram um amplo espectro de atividade antibacteriana, incluindo *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* (AYOOLA et al., 2008). Estudos realizados por Zahli et al. (2023), que ao avaliarem a eficácia antibacteriana do óleo essencial de *S. aromaticum* contra cepas de *Salmonella* de origem alimentar isoladas de aves e mariscos, separadamente e em combinação com antibióticos (gentamicina e ampicilina) mostraram que o óleo de *S. aromaticum* foi ativo em todas as cepas testadas. Resultados obtidos por Selles e et al. (2020) ao realizarem atividade antimicrobiana contra seis bactérias enteropatogênicas mostraram que o óleo essencial de *S. aromaticum* exibiu um MIC de 1,36 mg/mL a 2,72 mg/mL e MBC de 5,45 mg/mL a 10,9 mg/mL contra todas as bactérias, incluindo *E. coli* e *Salmonella* sp.

**Tabela 9 - Concentração inibitória mínima e concentração bactericida mínima dos óleos essenciais de *Syzygium aromaticum* frente as cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp.**

Espécies	<i>Syzygium aromaticum</i>	
	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0,62	1,25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1,25	1,25
<i>Salmonella</i> sp.	1,25	1,25

Fonte: Elaborada pelo autor.

CIM: Concentração Inibitória Mínima; CBM: Concentração Bactericida Mínima

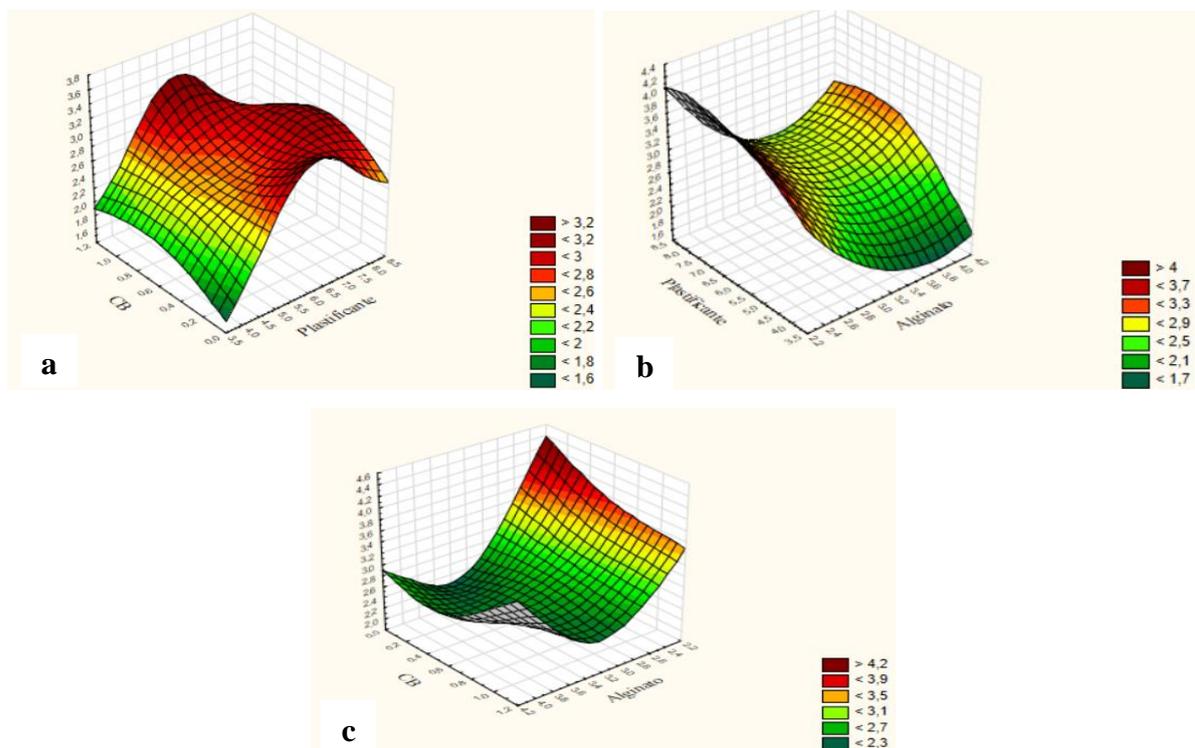
Vale ressaltar que a atividade antibacteriana apresentada pelo óleo *S. aromaticum* contra as espécies bacterianas poderá estar associada ao alto teor de eugenol (62,81%), presente no óleo avaliado nesse estudo. Nazaro e et al. (2013) relataram que o eugenol atua nas células

bacterianas alterando sua membrana celular, afetando o transporte de íons e ATP, além de provocar alterações no perfil de ácidos graxos de diferentes bactérias. Também atua contra várias enzimas bacterianas, incluindo ATPase e histidina carboxilase. Além disso, o eugenol demonstrou a capacidade de desintegração na membrana bacteriana e, conseqüentemente na desnaturação das proteínas e da reação deste composto com os fosfolípidos da membrana celular alterando a sua permeabilidade. E o aumento desta, causa a morte do organismo (GUAN et al., 2007).

### 14.3 Delineamento experimental

As interações das variáveis foram dadas por gráficos de superfície de resposta (Figuras 6 e 7). Na Figura 1 estão expressos os dados de PVA. Observa-se que na Figura 6a, quanto maior a quantidade de glicerol maior a permeabilidade, obtendo PVA de 4,0, na concentração de 8% de glicerol.

**Figura 6 - Representações 3D das interações de a: Plastificante-CB b: Plastificante-Alginato e c Alginato-CB no PVA**

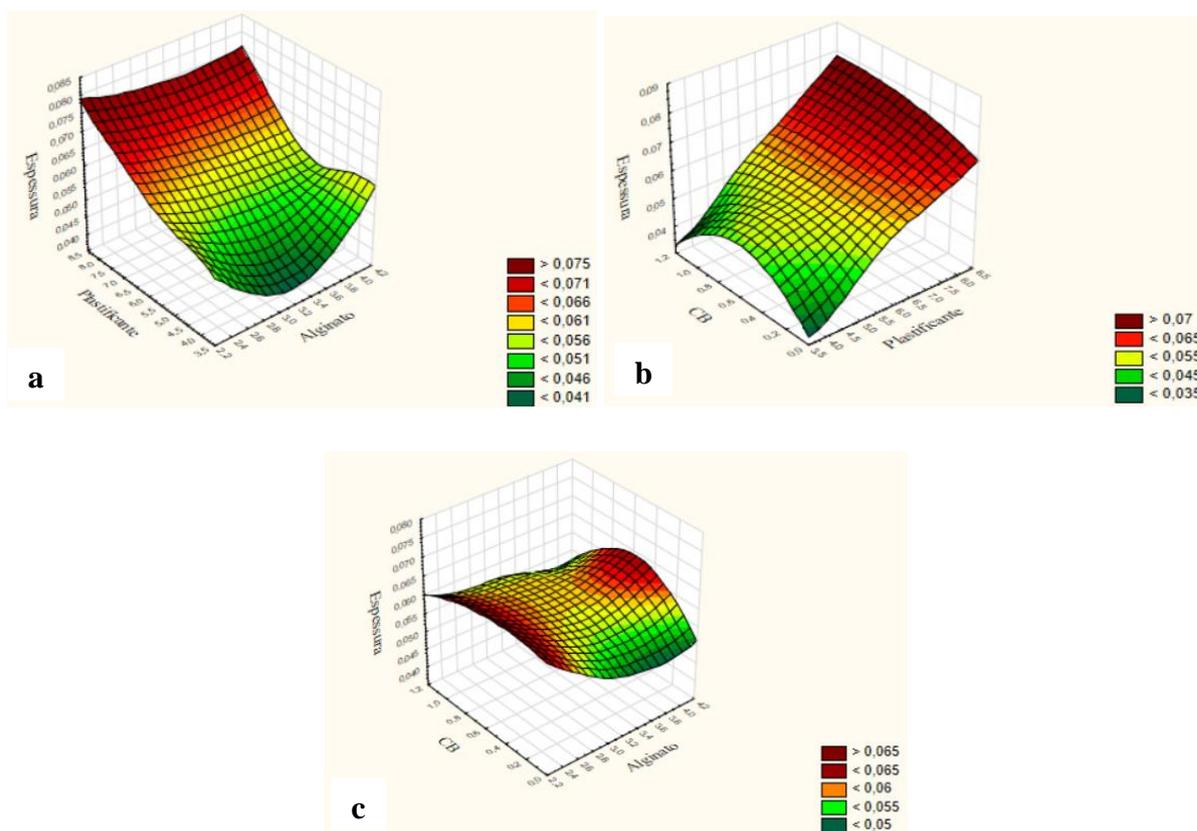


Fonte: Elaborada pelo autor

O aumento da concentração de glicerol de 4% para 8%, elevou a espessura de 0,046mm para 0,075mm (Figura 7). Bagheri; Radi e Amiri (2019) ao avaliarem as condições de secagem

e características dos filmes de alginato plastificados com glicerol, também observaram aumento da espessura devido a maior presença de glicerol. A interação do alginato com a CB proporciona um aumento na espessura.

**Figura 7 - Representações 3D das interações de a: Plastificante-Alginato b: Plastificante-CB e c Alginato-CB na espessura**



Fonte: Elaborada pelo autor

Para a escolha do filme foi observado a PVA e espessura, de acordo com os resultados obtidos, o filme 4 (3,25% alginato, 4,00% glicerol e 0,10% de CB) foi o que apresentou melhor resultado para utilização como embalagem de embutidos cárneos, expressando PVA de 1,916 g.mm/m<sup>2</sup>.h.kPa e espessura de 0,039 mm (Tabela 10).

O PVA refere-se à resistência à umidade das membranas, dessa forma o baixo valor de PVA indica que as membranas compostas são mais duráveis em ambiente úmido. E são capazes de evitar a transferência de água entre o alimento e o ambiente. Um alto valor de PVA pode levar à deterioração microbiana do alimento (DIXON, 2011). Pois a migração do vapor de água é um dos principais fatores de alteração da qualidade sensorial. A atividade enzimática ou reações químicas nos alimentos, propriedades de textura e estabilidade microbiana e física em

produtos alimentícios são fortemente influenciadas pelo conteúdo de umidade e podem mudar drasticamente as características do alimento (SHIMAZU; MALI; GROSSMANN, 2007).

De acordo com Farhan e Hani (2017), os filmes com menor espessura, possuem menor permeabilidade ao vapor de água, sendo compostos também por uma menor quantidade de biopolímeros. Para obtenção de filmes comestíveis, é necessário que os mesmos tenham baixa espessura, para que não causem repúdio ao consumidor final e também apresentem parâmetros satisfatório em todos os quesitos, sensoriais e microbiológicos.

**Tabela 10 - Variáveis dependentes do delineamento Box-Behnken**

Variáveis	PVA (g.mm/m <sup>2</sup> .h.kPa)	Espessura (mm)
1	3,593±0,573 <sup>a</sup>	0,061±0,001 <sup>abcd</sup>
2	2,562±0,296 <sup>bcd</sup>	0,060±0,005 <sup>abcd</sup>
3	3,048±0,328 <sup>abc</sup>	0,056±0,001 <sup>cde</sup>
4	1,916±0,083 <sup>e</sup>	0,039±0,001 <sup>f</sup>
5	1,948±0,080 <sup>de</sup>	0,055±0,004 <sup>cde</sup>
6	3,093±0,426 <sup>abc</sup>	0,060±0,002 <sup>bcd</sup>
7	2,648±0,184 <sup>abcde</sup>	0,067±0,004 <sup>abc</sup>
8	2,505±0,301 <sup>cde</sup>	0,059±0,006 <sup>bcd</sup>
9	2,623±0,090 <sup>bcd</sup>	0,074±0,006 <sup>ab</sup>
10	2,696±0,076 <sup>abcde</sup>	0,053±0,002 <sup>cdef</sup>
11	3,492±0,662 <sup>ab</sup>	0,073±0,015 <sup>ab</sup>
12	2,180±0,257 <sup>cde</sup>	0,043±0,003 <sup>ef</sup>
13	2,755±0,263 <sup>abcde</sup>	0,054±0,001 <sup>cdef</sup>
14	2,804±0,130 <sup>abcde</sup>	0,051±0,001 <sup>def</sup>
15	2,890±0,238 <sup>abcd</sup>	0,075±0,001 <sup>a</sup>

Fonte: Elaborada pelo autor.

<sup>a,b,c,d,e,f</sup> Letras distintas na mesma coluna indicam diferença pelo teste de Tukey a 5%

#### 14.4 Ensaio antimicrobiano

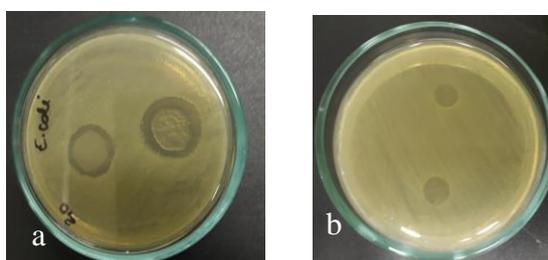
Os resultados dos testes antibacterianos indicaram que o filme ACO produzido com 1,5% de óleo essencial de *S. aromaticum*, apresentou halo apenas contra a bactéria *E. coli*, com diâmetro de 3,6 mm (Tabela 11). Porém, observa-se que o filme inibiu o crescimento microbiano de *S. aureus* e *Salmonella* sp. na área de contato com o meio de cultura (Figura 8b).

**Tabela 11 - Halo de inibição do filme ACO contra as cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* sp.**

Bactérias	Halo de inibição (mm)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	3,6
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-
<i>Salmonella</i> sp.	-

Fonte: Elaborada pelo autor.

**Figura 8 - Halo de inibição a: *E. coli*, b: *S. aureus* e *Salmonella* sp.**



Fonte: Elaborada pelo autor

Em estudo realizado por Odjo et al. (2022), avaliando filme de quitosana contendo óleo essencial de limão, puderam observar efeito antifúngico com halo de inibição de 11 e 20 mm, respectivamente, contra fungos *Candida albicans* e *Penicillium roqueforti*. Galino et al. (2019), ao estudar a atividade antimicrobiana de filmes comestíveis de gelatina e quitosana adicionados de óleo essencial de orégano e alecrim, frente a *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922) e *Escherichia coli* (ATCC 35218), utilizando filme de diâmetro de 1,5 cm, observaram valores de 47 e 30 mm respectivamente, para orégano e de 20 e 18 mm, respectivamente para alecrim. Comparando esses estudos com a pesquisa atual a atividade antimicrobiana do filme com óleo essencial de *S. aromaticum* é satisfatória.

## 15 CONCLUSÃO

O filme contendo 3,25% alginato, 4,00% glicerol e 0,10% de CB, é o mais indicado para utilização como embalagem de embutidos cárneos. O filme de alginato de sódio e celulose bacteriana contendo óleo essencial de *S. aromaticum*, apresenta potencial antimicrobiana frente as cepas de *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* sp., sendo considerado promissor para utilização na fabricação de embalagens ativas, contribuindo com a segurança microbiológica e manutenção das características sensoriais.

## REFERÊNCIAS

- AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANÇA, T. C. C. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo da Índia. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.
- AGNOLUCCI, M.; DAGHIO, M.; MANNELLI, F.; SECCI, G.; CRISTANI, C.; PALLA, M.; GIANNERINI, F.; GIOVANNETTI, M.; BUCCIONI, A. Use of chitosan and tannins as alternatives to antibiotics to control mold growth on PDO Pecorino Toscano cheese rind. **Food Microbiology**, v. 92, p. 103598, 2020.
- AHMED, J.; MULLA, M. Z.; ARFAT, Y. A. Thermo-mechanical, structural characterization and antibacterial performance of solvent casted polylactide/cinnamon oil composite films. **Food Control**, v. 69, p. 196-204, 2016.
- AKANSHA, K. S.; ARORA, A.; HEENA, S. P.; JANGRA, R. Chemical composition and synergistic antifungal potential of *Nigella sativa* L. seeds and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & LM Perry buds essential oils and their major compounds, and associated molecular docking studies. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, p. 1-24, 2023.
- AL-HILIFI, S. A.; RASHED, M. M. Fabrication, characterization, and anti-free radical performance of edible packaging-chitosan film synthesized from shrimp shell incorporated with ginger essential oil. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 15, p. 2951–2962, 2021.
- ALÍA, A.; CÓRDOBA, J. J.; RODRÍGUEZ, A.; GARCÍA, C.; ANDRADE, M. J. Evaluation of the efficacy of *Debaryomyces hansenii* as protective culture for controlling *Listeria monocytogenes* in sliced dry-cured ham. **Food Science and Technology**, v. 119, p. 108886, 2020.
- ALIREZALU, K.; HESARI, J.; NEMATİ, Z.; MUNEKATA, P. E. S.; BARBA, F. J.; LORENZO, J. M. Combined effect of natural antioxidants and antimicrobial compounds during refrigerated storage of nitrite-free frankfurter-type sausage. **Food Research International**, v. 120, p. 839-850, 2019.
- AL-JUHAIMI, F.; ABTAIN, I. A.; AHMED, I. A. M.; ALSA WMAHI, O. N.; GHAFOR, K.; ADIAMO, O. Q.; BABIKER, E. E. Assessment of oxidative stability and physicochemical, microbiological, and sensory properties of beef patties formulated with baobab seed (*Adansonia digitata*) extract. **Meat Science**, v. 162, p. 108044, 2020.
- ALTANER, C. M.; THOMAS, L. H.; FERNANDES, A. N.; JARVIS, M. C. How cellulose stretches: synergism between covalent and hydrogen bonding. **Biomacromolecules**, v. 15, n. 3, p. 791-798, 2014.
- AMANI, M. A.; SARKODIE, S. A. Mitigating spread of contamination in meat supply chain management using deep learning. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, 2022.
- AMARA, C. B.; KIM, L.; OULAHAL, N.; DEGRAEVE, P.; GHARSALLAOUI, A. Using complexation for the microencapsulation of nisin in biopolymer matrices by spray-drying. **Food Chemistry**, v. 236, p. 32-40, 2017.

ANACARSO, I.; SABIA, C.; DE NIEDERHÄUSERN, S.; ISEPPI, R.; CONDÒ, C.; BONDI, M.; MESSI, P. In vitro evaluation of the amoebicidal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and cloves (*Syzygium aromaticum* L. Merr. & Perry) essential oils against *Acanthamoeba polyphaga* trophozoites. **Natural Product Research**, v. 33, n. 4, p. 606–611, 2019.

ANANOU, S.; MAQUEDA, M.; MARTÍNEZ-BUENO, M.; GÁLVEZ, A.; VALDIVIA, E. Control of *Staphylococcus aureus* in sausages by enterocin AS-48. **Meat Science**, v. 71, p. 549-556, 2005.

ANWER, M. K.; OLIVEIRA, S.; JAMIL, E. O.; RIBEIRO, F.; SHAKEEL. Enhanced antibacterial effects of clove essential oil by nanoemulsion. **Revista de Oleo Science**, v. 63, p. 347-354, 2014.

APARICIO, J. F.; BARREALES, E. G.; PAYERO, T. D.; VICENTE, C. M.; DE PEDRO, A.; SANTOS-ABERTURAS, J. Biotechnological production and application of the antibiotic pimarinic: biosynthesis and its regulation. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 100, n. 1, p. 61-78, 2016.

ARAÚJO, M. K.; GUMIELA, A. M.; BORDIN, K.; LUCIANO, F. B.; DE MACEDO, R. E. F. Combination of garlic essential oil, allyl isothiocyanate, and nisin Z as bio-preservatives in fresh sausage. **Meat Science**, v. 143, p. 177-183, 2018.

ARIMA, A. A.; PAVINATTO, F. J.; DE OLIVEIRA, O. N.; GONZALES, E. R. P. The negligible effects of the antifungal natamycin on cholesterol-dipalmitoyl phosphatidylcholine monolayers may explain its low oral and topical toxicity for mammals. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 122, p. 202-208, 2014.

ARSLAN, B.; SOYER, A. Effects of chitosan as a surface fungus inhibitor on microbiological, physicochemical, oxidative and sensory characteristics of dry fermented sausages. **Meat Science**, v. 145, p. 107-113, 2018.

ASHWORTH, I. W.; DIRAT, O.; TEASDALE, A.; WHITING, M. Potential for the formation of N-nitrosamines during the manufacture of active pharmaceutical ingredients: an assessment of the risk posed by trace nitrite in water. **Organic Process Research & Development**, v. 24, n. 9, p. 1629-1646, 2020.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. **Relatório Anual de 2021**. 2021. Disponível em: <[http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA\\_Relatorio\\_Anual\\_2021\\_web.pdf](http://abpa-br.org/wp-content/uploads/2021/04/ABPA_Relatorio_Anual_2021_web.pdf)>. Acesso em: 13 novembro 2022.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (United States of America). **Official methods of analysis**, Washington, 18<sup>a</sup>ed. 2016.

ATAIDE, J. O.; PRATISSOLI, D.; FRAGOSO, D. F. M.; PINHEIRO, P. F. Caracterização e atividade inseticida do óleo essencial de *Zingiber officinale* Roscoe-Zingiberaceae sobre *Duponchelia fovealis* Zeller, 1847 (Lepidoptera: Crambidae). **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 13, n. 2, p. 693-705, 2020.

AYOOLA, G. A.; LAWORE, F. M.; ADELOWOTAN, T.; AIBINU, I. E.; ADEN- IPEKUN, E.; COKER, H. A. B.; ODUGBEMI, T. O. Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzigium aromaticum* (clove). **African Journal of Microbiology Research**, v. 2, p. 162–166, 2008.

AZEREDO, H. M. C. **Fundamentos de Estabilidade de Alimentos**. 2ª ed. rev. e ampl. Brasília: DF-Embrapa, 2012. 328 p.

AZIZ, M.; KARBOUNE, S. Natural antimicrobial/antioxidant agents in meat and poultry products as well as fruits and vegetables: A review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 58, n. 3, p. 486-511, 2018.

BABAZADEH, A.; TABIBIAZAR, M.; HAMISHEHKAR, H.; SHI, B. Zein-CMC-PEG multiple nanocolloidal systems as a novel approach for nutra-pharmaceutical applications. **Advanced Pharmaceutical Bulletin**, v. 9, n. 2, p. 262, 2019.

BADR, M. M.; BADAWY, M. E.; TAKTAK, N. E. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of cinnamon essential oil and cinnamaldehyde nanoemulsions. **Journal of Essential Oil Research**, v. 34, p. 544-558, 2022.

BAGHERI DARVISH, H.; BAHRAMI, A.; JAFARI, S. M.; WILLIAMS, L. Micro/nanoencapsulation strategy to improve the efficiency of natural antimicrobials against *Listeria monocytogenes* in food products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 61, n. 8, p. 1241-1259, 2021.

BAGHERI, F.; RADI, M.; AMIRI, S. Drying conditions highly influence the characteristics of glycerol-plasticized alginate films. **Food Hydrocolloids**, v. 90, p. 162-171, 2019.

BAGNATO, G.; IULIANELLI, A.; SANNA, A.; BASILE, A. Glycerol production and transformation: a critical review with particular emphasis on glycerol reforming reaction for producing hydrogen in conventional and membrane reactors. **Membranes**, v. 7, n. 2, p. 17, 2017.

BAJPAL, V. K.; AL-REZA, S. M.; CHOI, U. K.; LEE, J. H.; KANG, S. C. Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activities of Leaf Essential Oil and Extracts of *Metasequoia Glyptostroboides* Miki Ex HU. **Food and Chemical Toxicology**, v. 47, p. 1876-1883, 2009.

BAKRY, A. M.; ABBAS, S.; ALI, B.; MAJEED, H.; ABOUELWAFI, M. Y.; MOUSA, A.; LIANG, L. Microencapsulation of oils: A comprehensive review of benefits, techniques, and applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 15, p. 143-182, 2016.

BALDIN, J. C.; MICHELIN, E. C.; POLIZER, Y. J.; RODRIGUES, I.; GODOY, S. H. S.; FREGONESI, R. P.; PIRES, M. A.; CARVALHO, L. T.; FERNANDES, A. M.; TRINDADE, M. A. Microencapsulated jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) extract added to fresh sausage as natural dye with antioxidant and antimicrobial activity. **Meat Science**, v. 118, p. 15-21, 2016.

BANCIU, R. M.; NUMAN, N.; VASILESCU, A. Optical biosensing of lysozyme. **Journal of Molecular Structure**, v. 1250, p. 131639, 2021.

BARBOSA, A. S.; SOUSA, E. G.; SILVA, M. A.; OLIVEIRA, H. S. M. C.; MEDEIROS, M. B. **Plantas medicinais: aspectos do uso de fitoterápicos na melhoria da qualidade de vida humana**. X Encontro de iniciação à docência; UFPB-PRG: João Pessoa, Brazil, p. 1-6, 2007.

BARBOSA, F.; PINTO, E.; KIJJOA, A.; PINTO, M.; SOUSA, E. Targeting antimicrobial drug resistance with Marine natural products. **International Journal of Antimicrobial**, v. 56, n. 1, p. 106005, 2020.

BARROS, D. M.; MELO, M. A.; MOURA, D. F.; SILVA, J. H. L.; SILVA, H. M. L.; SANTOS, J. S. S.; ROCHA, T. A.; OLIVEIRA, G. B.; FERREIRA, S. A. O.; COSTA, M. P.; DINIZ, M. A.; MELO, N. L. L. X.; SANTOS, R. C. B.; LEITE, D. R. S.; PONTES, A. K. A.; SILVA, R. F.; LEITE, A. R. F.; SOUZA, J. C. V.; COSTA, M. P.; SILVA, A. M. R.; GOMES, M. DE V.; AGUIAR, G. B.; DE FONTE, R. A. B. Potencial utilização de sistemas antimicrobianos naturais como conservantes alimentares/potential use of natural antimicrobial systems as food conservatives. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 6, p. 40476-40491, 2020.

BATISTA, A. F. P.; DOS SANTOS, A. R.; DA SILVA, A. F.; TREVISAN, D. A. C.; RIBEIRO, L. H.; CAMPANERUT-SÁ, P. A. Z.; ABREU FILHO, B. A.; MACHINSKI JÚNIOR, M.; GIKCHA, J. M. G. Inhibition of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* by combined carvacrol and potassium sorbate in vitro and in tomato paste. **Food Science and Technology**, v. 100, p. 92-98, 2019.

BECERRIL, R.; NERÍN, C.; SILVA, F. Encapsulation systems for antimicrobial food packaging components: An update. **Molecules**, v. 25, n. 5, p. 1134, 2020.

BELLIK, Y. Total antioxidant activity and antimicrobial potency of the essential oil and oleoresin of *Zingiber officinale* Roscoe. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. 1, p. 40-44, 2014.

BEM, C.; EGHBAL, N.; OULAHAL, N.; DEGRAEVE, P.; GHARSALLAOUI, A. Properties of lysozyme/sodium alginate complexes for the development of antimicrobial films. **Food Research International**, v. 89, p. 272-280, 2016.

BEN-FADHEL, Y.; SALTAJI, S.; KHLIFI, M. A.; SALMIERI, S.; VU, K. D.; LACROIX, M. Active edible coating and  $\gamma$ -irradiation as cold combined treatments to assure the safety of broccoli florets (*Brassica oleracea* L.). **International Journal of Food Microbiology**, v. 241, p. 30-38, 2017.

BHAVANIRAMYA, S.; VISHNUPRIYA, S.; AL-ABOODY, M. S.; VIJAYAKUMAR, R.; BASKARAN, D. Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. **Grain & Oil Science and Technology**, v. 2, p. 49-55, 2019.

BILBAO-SAINZ, C.; CHIOU, B. S.; PUNOTAI, K.; OLSON, D.; WILLIAMS, T.; WOOD, D.; RODOV, V.; POVERENOV, E.; MCHUGH, T. Layer-by-layer alginate and fungal chitosan based edible coatings applied to fruit bars. **Journal of Food Science**, v. 83, p. 1880-1887, 2018.

- BO, T.; LIU, M.; ZHONG, C.; ZHANG, Q.; SU, Q. Z.; TAN, Z. L.; HAN, P. P.; JIA, S. R. Metabolomic analysis of antimicrobial mechanisms of  $\epsilon$ -poly-l-lysine on *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 19, p. 4454-4465, 2014.
- BONDI, M.; LAUKOVÁ, A.; NIEDERHAUSERN, S.; MESSI, P.; PAPADOPOULOU, C. Natural preservatives to improve food quality and safety. **Journal of Food Quality**, v. 2017, 2017.
- BORBOREMA, D. P. S.; DE SOUZA, C. N.; CARVALHO, C. M. C.; AGUILAR, C. M.; DE MATOS JÚNIOR, F. E.; PEREIRA, U. A.; XAVIER, E. D.; XAVIER, A. R. E. O.; DE FARIA, J. T.; DE ALMEIDA, A. C. Atividade antibacteriana e antibiofilme de óleo essencial de *Syzygium aromaticum* microencapsulado e não microencapsulado. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 6, p. e41111629076-e41111629076, 2022.
- BOUARAB-CHIBANE, L.; FORQUET, V.; LANTÉRI, P.; CLÉMENT, Y.; LÉONARD-AKKARI, L.; OULAHAL, N.; DEGRAEVEL, P.; BORDES, C. Antibacterial properties of polyphenols: characterization and QSAR (Quantitative structure–activity relationship) models. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 829, 2019.
- BOYACI, D.; IORIO, G.; SOZBILLEN, G. S.; ALKAN, D.; TRABATTONI, S.; PUCILLO, F.; FARRIS, S.; YEMENICIOĞLU, A. Development of flexible antimicrobial zein coatings with essential oils for the inhibition of critical pathogens on the surface of whole fruits: Test of coatings on inoculated melons. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 20, p. 100316, 2019.
- BRABER, N. L. V.; DI GIORGIO, L.; AMINAHUEL, C. A.; VERGARA, L. I. D.; COSTA, A. O. M.; MONTENEGRO, M. A.; MAURI, A. N. Antifungal whey protein films activated with low quantities of water soluble chitosan. **Food Hydrocoll**, v. 110, p. 106156, 2020.
- BRACCINI, V. P.; ARBELLO, D. D. R.; JIMÉNEZ, M. S. E.; ERHARDT, M. M.; PELLEGRIN, L. F. V.; RICHARDS, N. S. P. S. Tipos de fibras musculares, identificação, características e qualidade da carne. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 21180-21190, 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Imunizações e Doenças Transmissíveis. **Vigilância epidemiológica das doenças de transmissão hídrica e alimentar** – Brasília: Ministério da Saúde, 2021. Disponível em: <[https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/doencas-transmitidas-por-alimentos-dta/manual\\_dtha\\_2021\\_web.pdf/view](https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/doencas-transmitidas-por-alimentos-dta/manual_dtha_2021_web.pdf/view)> Acesso em: 13 janeiro 2023.
- BRASIL. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil**. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, 2019a. Disponível em: <<http://portalsinan.saude.gov.br/surto-doencas-transmitidas-por-alimentos-dta>>. Acesso em: 26 novembro 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 60 de 23 de dezembro de 2019. **Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos**. Diário Oficial da União, Seção 1, p. 133, 26 de março, 2019b. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>>. Acesso em: 19 abril 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 272, de 14 de março de 2019. **Regulamento Técnico: Aditivos alimentares para uso em carnes e produtos cárneos, suas respectivas funções, limites máximos e condições de uso.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 de março de 2019c. Disponível em: <[https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2019/rdc0272\\_14\\_03\\_2019.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2019/rdc0272_14_03_2019.pdf)>. Acesso em: 16 dezembro 2022.

BRASIL. Decreto nº 9013 de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989. **Dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 mar 2017. Seção 1. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/mpa/legislacao/legislacao-geral-da-pesca/decreto-no-9-013-de-29-03-2017.pdf/view>> Acesso em: 10 novembro 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria da defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº.4, de 31 de março de 2000. **Regulamento Técnico de identidade e qualidade de Linguiça.** Publicado no Diário Oficial da União em 05 de maio de 2000. Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-4-de-31-03-2000,662.html>>. Acesso em: 16 dezembro 2022.

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.

CALEJA, C.; BARROS, L.; ANTONIO, A. L.; CAROCHO, M.; OLIVEIRA, M. B.; FERREIRA, I. C. Fortification of yogurts with different antioxidant preservatives: A comparative study between natural and synthetic additives. **Food Chemistry**, v. 210, p. 262-268, 2016.

CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems—A review. **Food Control**, v. 54, p. 111-119, 2015.

CAMPANA, E. H.; CARVALHAES, C. G.; BARBOSA, P. P.; MACHADO, A. M. D. O.; PAULA, A. M. D.; GALES, A. C. Avaliação das metodologias MICE®, Etest® e microdiluição em caldo para determinação da CIM em isolados clínicos. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, p. 157-164, 2011.

CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 107-120, 2018.

CARVALHO, C. C. P.; LOPES FILHO, F.; HOFFMANN, F. L.; ROMANELLI, P. F. Histórico e aspectos tecnológicos do processamento da linguíça cuiabana. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 3, p. 428-433, 2010.

CARVALHO, Z. S.; DE SOUZA, R. N.; DE JESUS MOREIRA, J.; TELES, S.; PEREIRA, J. A.; DA SILVA, F. Atividade antifúngica do óleo essencial de *Lippia alba* em *Aspergillus welwitschiae*. **Magistra**, v. 33, 2023.

- CETIN-KARACA, H.; NEWMAN, M. C. Antimicrobial efficacy of phytochemicals against *Bacillus cereus* in reconstituted infant rice cereal. **Food Microbiology**, v. 69, p. 189-195, 2018.
- CHAN, W. K.; TAN, L. T. H.; CHAN, K. G.; LEE, L. H.; GOH, B.-H. Nerolidol: a sesquiterpene alcohol with multifaceted pharmacological and biological activities. **Moléculas**, v. 21, n. 5, p. 529, 2016.
- CHANG, W.; LIU, F.; SHARIF, H. R.; HUANG, Z.; GOFF, H. D.; ZHONG, F. Preparation of chitosan films by neutralization for improving their preservation effects on chilled meat. **Food Hydrocolloids**, v. 90, p. 50-61, 2019.
- CHANG, Y. P.; ABD KARIM, A.; SEOW, C. C. Interactive plasticizing-antiplasticizing effects of water and glycerol on the tensile properties of tapioca starch films. **Food Hydrocolloids**, v. 20, p. 1-8, 2006.
- CHAUDHURI, R. R.; HENDERSON, I. R. The evolution of the *Escherichia coli* phylogeny. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 12, n. 2, p. 214-26, 2012.
- CHEN, F. P.; KONG, N. Q.; WANG, L.; LUO, Z.; YIN, J.; CHEN, Y. Nanocomplexation between thymol and soy protein isolate and its improvements on stability and antibacterial properties of thymol. **Food Chemistry**, v. 334, p. 127594, 2021.
- CHEN, J.; TANG, J.; BHUNIA, A. K.; TANG, C.; WANG, C.; SHI, H. Development of a multi-pathogen enrichment broth for simultaneous growth of five common foodborne pathogens. **The Journal of General and Applied Microbiology**, v. 61, n. 6, p. 224-231, 2015.
- CHIBEU, A.; AGIUS, L.; GAO, A.; SABOUR, P. M.; KROPINSKI, A. M.; BALAMURUGAN, S. Efficacy of bacteriophage LISTEXTMP100 combined with chemical antimicrobials in reducing *Listeria monocytogenes* in cooked Turkey and roast beef. **International Journal of Food Microbiology**, v. 167, p. 208-214, 2013.
- CHUESIANG, P.; SANGUANDEEKUL, R.; SIRIPATRAWAN, U. Phase inversion temperature-fabricated cinnamon oil nanoemulsion as a natural preservative for prolonging shelf-life of chilled Asian seabass (*Lates calcarifer*) fillets. **Food Science and Technology**, v. 125, p. 109122, 2020.
- CHURKLAM, W.; CHATURONGAKUL, S.; NGAMWONGSATIT, B.; AUNPAD, R. The mechanisms of action of carvacrol and its synergism with nisin against *Listeria monocytogenes* on sliced bologna sausage. **Food Control**, v. 108, p. 106864, 2020.
- CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Padrões de desempenho para testes de susceptibilidade antimicrobiana**. Vigésimo quinto suplemento informativo. Documento CLSI M100-S52. CLSI, Wayne, PA, EUA, 2015.
- CODE OF FEDERAL REGULATIONS. **Direct food substances affirmed as generally recognized as safe**. United States Code of Federal Regulations (Title 21 Foods and Drugs. Part 184), 2019. Disponível em: <<https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-B/part-184>>. Acesso dezembro 2022.

COMISSÃO EUROPEIA. Regulamento (CE) n.º 1333/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de dezembro de 2008, **relativo aos aditivos alimentares**. Jornal Oficial da União Europeia, L 354, pp. 16–33, 2008.

CUGGINO, S. G.; BASCON-VILLEGAS, I.; RINCÓN, F.; PÉREZ, M. A.; POSADA-IZQUIERDO, G.; MARUGÁN, J.; CARRO, C. P.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, F. Modelling the combined effect of chlorine, benzyl isothiocyanate, exposure time and cut size on the reduction of *Salmonella* in fresh-cut lettuce during washing process. **Food Microbiology**, v. 86, p. 103346, 2020.

CUI, H. Y.; WU, J.; LI, C. Z.; LIN, L. Improving anti-listeria activity of cheese packaging via nanofiber containing nisin-loaded nanoparticles. **Food Science and Technology**, v. 81, p. 233-242, 2017.

CUI, H.; ZHANG, C.; LI, C.; LIN, L. Antimicrobial mechanism of clove oil on *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 94, p. 140–146, 2018.

CZERNICKA, L.; LUDWICZUK, A.; RÓJ, E.; MARZEC, Z.; JARZAB, A.; KUKULA-KOCH, W. Acetylcholinesterase inhibitors among *Zingiber officinale* terpenes – Extraction conditions and thin layer chromatography-based bioautography studies. **Molecules**, v. 25, n. 7, p. 1643, 2020.

DAN, J. X.; MENG, Y. C. Estudo das mudanças características de embutidos fermentados de lazer durante o período de armazenamento. **Indústria da Carne**, v. 7, p. 18-24, 2013.

DEL NOBILE, M. A.; LUCERA, A.; COSTA, C.; CONTE, A. Food applications of natural antimicrobial compounds. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p. 287, 2012.

DEMAÎTRE, N.; VAN DAMME, I.; DE ZUTTER, L.; GEERAERD, A. H.; RASSCHAERT, G.; DE REU, K. Occurrence, distribution and diversity of *Listeria monocytogenes* contamination on beef and pig carcasses after slaughter. **Meat Science**, v. 108177, p. 108177, 2020.

DEMİR ÖZER, E.; YILDIRIM, M. Nisinin modifikasyonu. **Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, v. 8, n. 1, p. 239-244, 2017.

DIAS, F. H. C.; NUNES, M. S.; SILVA, E. C.; SILVA, E. G. F.; SILVA, H. F.; NASCIMENTO, L. C. Efeito dos óleos essenciais na qualidade sanitária e fisiológica de sementes de milho crioulo. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n. 9, p. 1-10, 2021.

DIXON, J. Packaging materials: 9. multilayer packaging for food and beverages. ILSI Europe, 2011.

DONSÌ, F.; ANNUNZIATA, M.; VINCENSI, M.; FERRARI, G. Design of nanoemulsion based delivery systems of natural antimicrobials: Effect of the emulsifier. **Journal of Biotechnology**, v. 159, n. 4, p. 342-350, 2012.

DRAWANZ, B. B.; BUENO, T. ROSA.; BOCCHESI, C. A. C.; BEZ, F. S.; ANTUNES, E. G. Óleos essenciais e hidrolatos de orégano e cravo-da-índia sobre o desenvolvimento

micelial de *Botrytis cinerea* isolado de morangos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 15, n. 4, p. 341-345, 2020.

DUAN, X.; DUAN, S.; WANG, Q.; JI, R.; CAO, Y.; MIAO, J. Effects of the natural antimicrobial substance from *Lactobacillus paracasei* FX-6 on shelf life and microbial composition in chicken breast during refrigerated storage. **Food Control**, v. 109, p. 106906, 2020.

DUCKETT, S. K.; KLEIN, T. A.; LECKIE, R. K.; THORNGATE, J. H.; BUSBOOM, J. R.; SNOWDER, G. D. Effect of freezing on calpastatin activity and tenderness of callipyge lamb. **Journal of Animal Science**, v. 76, n. 7, p. 1869-1874, 1998.

ECHEVERRÍA, I.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MAURI, A. N.; MONTERO, M. P. Structure, functionality, and active release of nanoclay–soy protein films affected by clove essential oil. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, p. 1937-1950, 2016.

EL-SABER BATIHA, G.; ALKAZMI, L. M.; WASEF, L. G.; BESHBIHY, A. M.; NADWA, E. H.; RASHWAN, E. K. *Syzygium aromaticum* L. (Myrtaceae): Traditional uses, bioactive chemical constituents, pharmacological and toxicological activities. **Biomolecules**, v. 10, n. 2, p. 202, 2020.

ERGEZER, H.; KAYA, H.; SIMSEK, Ö. Antioxidant and antimicrobial potential of artichoke (*Cynara scolymus* L.) extract in beef patties. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 36, n. 2, 2018.

FALLEH, H.; JEMAA, M. B.; SAADA, M.; KSOURI, R. Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. **Food Chemistry**, v. 330, p. 127268, 2020.

FAN, A. M.; WILLHITE, C. C.; BOOK, S. A. Evaluation of the nitrate drinking water standard with reference to infant methemoglobinemia and potential reproductive toxicity. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 7, n. 2, p. 135-148, 1987.

FAN, L.; ISMAIL, B. B.; HOU, F.; MUHAMMAD, A. I.; DING, T.; LIU, D. Ultrasound pretreatment enhances the inhibitory effects of nisin/carvacrol against germination, outgrowth and vegetative growth of spores of *Bacillus subtilis* ATCC6633 in laboratory medium and milk: Population and single-cell analysis. **International Journal of Food Microbiology**, v. 311, p. 108329, 2019.

FARHAN, A.; HANI, N. M. Characterization of edible packaging films based on semi-refined kappa-carrageenan plasticized with glycerol and sorbitol. **Food Hydrocolloids**, v. 64, p. 48-58, 2017.

FARZANEH, P.; EHSANI, M. R.; KHANAHMADI, M.; SHARIFAN, A. Characterization of bio-peptides purified from *Terfezia clavaryi* hydrolysate and their antibacterial effect on raw milk. **Food Science and Technology**, v. 116, p. 108522, 2019.

FAZAL, H.; AKRAM, M.; AHMAD, N.; QAISAR, M.; KANWAL, F.; REHMAN, G.; ULLAH, I. Nutritionally rich biochemical profile in essential oil of various *Mentha* species and their antimicrobial activities. **Protoplasma**, v. 260, n. 2, p. 557-570, 2023.

FIELD, D.; DALY, K.; O'CONNOR, P. M.; COTTER, P. D.; HILL, C.; ROSS, R. P. Efficacies of nisin A and nisin V semipurified preparations alone and in combination with plant essential oils for controlling *Listeria monocytogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81, n. 8, p. 2762-2769, 2015.

FIGUEIREDO, A. C. L.; ALMEIDA, R. C. Antibacterial efficacy of nisin, bacteriophage P100 and sodium lactate against *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat sliced pork ham. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, p. 724-729, 2017.

FLORES, M.; TOLDRÁ, F. Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products, **Meat Science**, v. 171, p. 108272, 2021.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Resumo e conclusões do Comité de Peritos em Aditivos Alimentares da Cinquenta e Nona Reunião; 2002 a 4 de junho de 13**; Geneva World Health Organization, Geneva, 2002.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Code of Federal Regulations (CFR) title 21-Part 182 substances generally recognized as safe (GRAS)**. 2019. Disponível em: <<https://www.fda.gov/medical-devices/medical-device-databases/code-federal-regulations-title-21-food-and-drugs>>. Acesso em: 10 fevereiro 2023.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Direct food substances affirmed as generally recognized as safe: egg white lysozyme**. Federal Register, 63, 4, 12421 e 12426, 1998. Disponível em: <<https://www.federalregister.gov/documents/1998/03/13/98-6571/direct-food-substances-affirmed-as-generally-recognized-as-safe-egg-white-lysozyme>>. Acesso em: 3 december 2022.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Food additives permitted for direct addition to food for human consumption**, 2018. Disponível em: <<https://www.ecfr.gov/current/title-21/chapter-I/subchapter-B/part-172>>. Acesso em: 12 novembro 2022.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Inventory of GRAS notices: summary of all GRAS notices**, 2006. Disponível em: <<http://www.cfsah.fda.gov/~rdb/opa-gras.html>>. Acesso em: 10 outubro 2022.

FOOD SAFETY AND INSPECTION. Service - FSIS Directive 7120.1. **Safe and suitable ingredients used in the production of meat, poultry and egg products**, 2016. Disponível em: <<https://www.fsis.usda.gov/policy/fsis-directives/7120.1>>. Acesso em: 28 outubro 2022.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 496 p.

FRANCO, I.; PÉREZ, M. D.; CONESA, C.; CALVO, M.; SANCHEZ, M. L. Effect of technological treatments on bovine lactoferrin: an overview. **Food Research International**, v. 106, p. 173-182, 2018.

FU, Y.; SARKAR, P.; BHUNIA, A. K.; YUAN, Y. Delivery systems of antimicrobial compounds to food. **Trends in Food Science and Technology**, v. 57, p. 165-177, 2016.

- GALINDO, M. V.; DOS SANTOS PAGLIONE, I.; BALAN, G. C.; SAKANAKA, L. S.; SHIRAI, M. A. Atividade antimicrobiana e antioxidante de filmes comestíveis de gelatina e quitosana adicionados de óleos essenciais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 26, p. e019008-e019008, 2019.
- GALUS, S.; KADZI, J. Food applications of emulsion-based edible films and coatings. **Trends in Food Science and Technology**, v. 45, n. 2, p. 273-283, 2015.
- GANIARI, S.; CHOULITOU, E.; OREOPOULOU, V. Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. **Trends in Food Science and Technology**, v. 68, p. 70-82, 2017.
- GARAVAGLIA, J.; PINTO, L. M. N.; SOUZA, D. D.; CASTILHOS, J. D.; ROSSI, R. C.; MACHADO, I. C. K.; RAMOS, R. C. S.; ZIEGLER, D. D. R. Natamycin and nisin to improve shelf life and minimize benzene generation in lemon soft drinks. **Food Science and Technology**, v. 39, n. 2, p. 274-279, 2019.
- GARCÍA-GARCÍA, R.; SEARLE, S. S. Preservatives: Food Use. **Encyclopedia of Food and Health**, v. 1, p. 505-509, 2016.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. Importância e riscos das especiarias. **Higiene Alimentar**, v. 12, n. 57, p. 23-31, 1998.
- GHARIEB, R. M. A.; SAAD, M. F.; MOHAMED, A. S.; TARTOR, Y. H. Characterization of two novel lytic bacteriophages for reducing biofilms of zoonotic multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* and controlling their growth in milk. **Food Science and Technology**, v. 124, p. 109145, 2020.
- GHIRGA, F.; BONAMORE, A.; CALISTI, L.; D'ACQUARICA, I.; MORI, M.; BOTTA, B.; BOFFI, A.; MACONE, A. Green routes for the production of enantiopure benzyloisoquinoline alkaloids. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n. 11, p. 2464, 2017.
- GIANSANTI, F.; PANELLA, G.; LEBOFFE, L.; ANTONINI, G. Lactoferrin from milk: nutraceutical and pharmacological properties. **Pharmaceuticals**, v. 9, n. 4, p. 61, 2016.
- GILL, A. O.; HOLLEY, R. A. Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 5750-5755, 2004.
- GINEX, T.; SPYRAKIS, F.; COZZINI, P. FADB: a food additive molecular database for in silico screening in food toxicology. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 31, n. 5, p. 792-798, 2014.
- GODFRAY, H. C. J.; AVEYARD, P.; GARNETT, T.; HALL, J. H.; KEY, T. J.; LORIMER, J.; PIERREHUMBERT, R. T.; SCARBOROUGH, P.; SPRINGMANN, M.; JEBB, S. A. Meat consumption, health, and the environment. **Food Security**, v. 361, 2018.
- GOKOGLU, N. Novel natural food preservatives and applications in seafood preservation: A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 99, n. 5, p. 2068-2077, 2019.

GOMES, P. R. B.; MOUCHREK FILHO, V. E.; RABÊLO, W. F.; NASCIMENTO, A. A.; LOUZEIRO, H. C.; LYRA, W. S.; FONTENELE, M. A. Caracterização química e citotoxicidade do óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*). **Revista Colombiana de Ciências Químico-Farmacéuticas**, v. 47, n. 1, p. 37-52, 2018.

GONÇALVES, L. A.; LORENZO, J. M.; TRINDADE, M. A. Fruit and agro-industrial waste extracts as potential antimicrobials in meat products: A brief review. **Food**, v. 10, p. 1469, 2021.

GONÇALVES, S. M.; DE MELO, N. R.; DA SILVA, J. P.; CHÁVEZ, D. W.; GOUVEIA, F. S.; ROSENTHAL, A. Antimicrobial packaging and high hydrostatic pressure: Combined effect in improving the safety of coalho cheese. **Food Science and Technology International**, v. 27, n. 4, p. 301-312, 2021.

GONÇALVES, S. S.; ANTUNES, L. B.; SILVEIRA, M. F. A.; DE SOUZA, A. R. M.; CARVALHO, D. M. Efeito do glicerol nas propriedades mecânicas de filmes a base de quitosana. **DESAFIOS- Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, 6(especial), 110-117, 2019.

GONELIMALI, F. D.; LIN, J.; MIAO, W.; XUAN, J.; CHARLES, F.; CHEN, M.; HATAB, S. R. Antimicrobial properties and mechanism of action of some plant extracts against food pathogens and spoilage microorganisms. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1639, 2018.

GONG, F.; FUNG, Y.; LIANG, Y. Determination of volatile components in ginger using gas chromatography-mass spectrometry with resolution improved by data processing techniques. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 6378-6383, 2004.

GOUVÊA, A. A. L.; OLIVEIRA, R. L.; ASSIS, D. Y. C.; BORJA, M. S.; RIBEIRO, R. D. X.; LEÃO, A. G.; OLIVEIRA, P. A.; BEZERRA, L. B. Sensory and physicochemical quality of 'frescal' sausage from young bulls' meat fed with levels of licuri cake, **Italian Journal of Animal**, v. 17, p. 73-80, 2018.

GUAN, W.; GUAN, W.; LI, S.; YAN, R.; TANG, S.; QUAN, C. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. **Food Chemistry**, v. 101, n. 4, p. 1558-1564, 2007.

GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Natural products as antimicrobial agents. **Food Control**, v. 46, p. 412-429, 2014.

HACWYDRO, K.; FLASINSKI, M.; ROMANCZUK, K. Essential oils as food eco-preservatives: Model system studies on the effect of temperature on limonene antibacterial activity. **Food Chemistry**, v. 235, p. 127-135, 2017.

HAGHIGHI, H.; BIARD, S.; BIGI, F.; LEO, D. R.; BEDIN, E.; PFEIFER, F.; SIESLER, H. Z.; LICCIARDELLO, F.; PULVIRENTI, A. Comprehensive characterization of active chitosan-gelatin blend films enriched with different essential oils. **Food Hydrocolloids**, v. 95, p. 33-42, 2019.

HAMDI, M.; NASRI, R.; DRIDI, N.; HAFEDH, M.; ASHOUR, L.; NASRI, M. Improvement of the quality and the shelf life of reduced-nitrites turkey meat sausages incorporated with carotenoproteins from blue crabs shells. **Food Control**, v. 91, p. 148-159, 2018.

HAMDI, M.; NASRI, R.; HAJJI, S.; NIGEN, M.; LI, S.; NASRI, M. Acetylation degree, a key parameter modulating chitosan rheological, thermal and film-forming properties. **Food Hydrocolloids**, v. 87, p. 48-60, 2019.

HANUŠOVÁ, K.; DOBIÁŠ, J.; KLAUDISOVÁ, K. Effect of packaging films releasing antimicrobial agents on stability of food products. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 27, p. 347-349, 2009.

HAOUE, M. N.; TOMMASINO, M.; MERCURI, M. L.; BENEDETTI, F.; DI BELLA, S.; FRAMBOAS, M.; ALTISSIMI, M. S. Experimental accelerated shelf life determination of a ready-to-eat processed food. **Italian Journal of Food Safety**, v. 7, n. 4, 2018.

HASHEMI, S. M. B.; JAFARPOUR, D. Synergistic properties of *Eucalyptus caesia* and *Dracocephalum multicaule* Montbr & Auch essential oils: Antimicrobial activity against food borne pathogens and antioxidant activity in pear slices. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 44, n. 9, p. e14651, 2020.

HERAS-MOZOS, R.; MURIEL-GALET, V.; LÓPEZ-CARBALLO, G.; CATALÁ, R.; HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P.; GAVARA, R. Development and optimization of antifungal packaging for sliced pan loaf based on garlic as active agent and bread aroma as aroma corrector. **International Journal of Food Microbiology**, v. 290, p. 42-48, 2019.

HERNÁNDEZ-TÉLLEZ, C. N.; CORTEZ-ROCHA, M. O.; BURGOS-HERNÁNDEZ, A.; ROSAS-BURGOS, E. C.; LIZARDI-MENDOZA, J.; TORRES-ARREOLA, W.; PLASCENCIA-JATOMEA, M. Chitosan/arrageenan/lysozyme particles: Synthesis, characterization and antifungal activity against *Aspergillus parasiticus*. **Revista Mexicana de Ingeniería Química**, p. 897-912, 2018.

HOFFMANN, S.; SCALLAN, E. Chapter 2 - Epidemiology, cost, and risk analysis of foodborne disease. **Foodborne Diseases** (Third edition), p. 31-63, 2017.

HORITA, C. N.; BAPTISTA, R. C.; CATURLA, M. Y. R.; LORENZO, J. M.; BARBA, F. J.; SANT'ANA, A. S. Combining reformulation, active packaging and non-thermal post-packaging decontamination technologies to increase the microbiological quality and safety of cooked ready-to-eat meat products. **Trends in Food Science and Technology**, v. 72, p. 45-61, 2018.

HOSSEINI, S. F.; GHADERI, J.; G'OMEZ-GUILL'EN, M. C. Trans Cinnamaldehyde-doped quadripartite bio polymeric films: Rheological behavior of film-forming solutions and bio functional performance of films. **Food Hydrocolloids**, v. 112, p. 106339, 2021.

HUANG, X.; SUN, W.; LI, Z.; SHI, J.; ZHANG, N.; ZHANG, Y.; ZHAI, X.; HU, X.; ZOU, X. Hydrogen sulfide gas sensing toward on-site monitoring of chilled meat spoilage based on ratio-type fluorescent probe. **Food Chemistry**, v. 396, Article 133654, 2022.

HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; VAD, B. S.; STENVANG, M.; OTZEN, D. E., MEYERA, R. L. The antimicrobial mechanism of action of epsilon-poly-L-lysine. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 80, n. 24, p. 7758-7770, 2014.

IJIMA, Y.; KOEDUKA, T.; SUZUKI, H.; KUBOTA, K. Biosynthesis of geranial, a potent aroma compound in ginger rhizome (*Zingiber officinale*): Molecular cloning and characterization of geraniol dehydrogenase. **Plant Biotechnology**, v. 31, v. 5, p. 525-534, 2014.

INANLI, A. G.; TÜMERKAN, E. T. A.; ABED, N. E.; REGENSTEIN, J. M.; ÖZOGUL, F. The impact of chitosan on seafood quality and human health: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 97, p. 404-416, 2020.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Coordenação de trabalho e rendimento. Pesquisas de orçamentos familiares 2017 - 2018**. Rio de Janeiro: IBGE. 2020. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101742.pdf>. Acesso em: 10 janeiro 2023.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

INTERNATIONAL COMMISSION ON ILLUMINATION. Recommendations on Uniform Color Spaces, Color Difference Equations, Psychometric Color Terms. **Bureau Central de la CIE**, v. 2, 1978.

JACOBSEN, C.; PAIVA-MARTINS, F.; SCHWARZ, K.; BOCHKOV, V. Lipid oxidation and antioxidants in food and nutrition. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 121, p. 1900298, 2019.

JAFARI, S. M.; MASOUDI, S.; BAHRAMI, A. A Taguchi approach production of spray-dried whey powder enriched with nanoencapsulated vitamin D3. **Drying Technology**, v. 37, n. 16, p. 2059-2071, 2019.

JANJARASSKUL, T.; KROCHTA, M. Edible packaging materials. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 1, p. 415-448, 2010.

JIANG, S. Q.; JIANG, Z. Y.; ZHOU, G. L.; LIN, Y. C.; ZHENG, C. T. Effects of dietary isoflavone supplementation on meat quality and oxidative stability during storage in lingnan yellow broilers. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 13, n. 2, p. 387-393, 2014.

JIDEANI, A. I. O.; SILUNGWE, H.; TAKALANI, T.; OMOLOLA, A. O.; UDEH, H. O.; ANYASI, T. A. Antioxidant-rich natural fruit and vegetable products and human health. **International Journal of Food Properties**, v. 24, n. 1, p. 41-67, 2021.

JOHNSON, E. M.; JUNG, D. Y.; JIN, D. Y.; JAYABALAN, D. R.; YANG, D. S. H.; SUH, J. W. Bacteriocins as food preservatives: Challenges and emerging horizons. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 58, n. 16, p. 2743-2767, 2018.

JORGE, B.; BARBOSA, R. V.; BUCCIOLI, P. Incidência de contaminação dos alimentos por manipuladores de unidades de alimentação e nutrição e comércios alimentícios ambulantes. **Revista Fafibe On-line**, v. 11, n. 1, p. 64-77, 2019.

JU, J.; CHEN, X.; XIE, Y.; YU, H.; GUO, Y.; CHENG, Y.; QIAN, H.; YAO, W. Application of essential oil as a sustained release preparation in food packaging. **Trends in Food Science & Technology**, v. 92, p. 22-32, 2019.

JU, J.; XIE, Y.; GUO, Y.; CHENG, Y.; QIAN, H.; YAO, W. Application of edible coating with essential oil in food preservation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 15, p. 2467-2480, 2018.

KALEM, I. K.; BHAT, Z. F.; KUMAR, S.; DESAI, A. *Terminalia arjuna*: a novel natural preservative for improved lipid oxidative stability and storage quality of muscle foods. **Food Science and Human Wellness**, v. 6, n. 4, p. 167-175, 2017.

KANATT, S. R.; RAO, M. S.; CHAWLA, S. P.; SHARMA, A. Effects of chitosan coating on shelf-life of ready-to-cook meat products during chilled storage. **Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 321-326, 2013.

KANG, J. H.; SONG, K. B. Antibacterial activity of the noni fruit extract against *Listeria monocytogenes* and its applicability as a natural sanitizer for the washing of fresh-cut produce. **Food Microbiology**, v. 84, p. 103260, 2019.

KANG, J. H.; SONG, K. B. Combined effect of a positively charged cinnamon leaf oil emulsion and organic acid on the inactivation of *Listeria monocytogenes* inoculated on fresh-cut Treviso leaves. **Food Microbiology**, v. 76, p. 146-153, 2018.

KARAMAN, K.; SAGDIC, O.; YILMAZ, M. T. Potential of natamycin to control growth of *Zygosaccharomyces* spp. in apple juice during storage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 332, p. 108771, 2020.

KAUSAR, T.; HANAN, E.; AYOB, O.; PRAWEEEN, B.; AZAD, Z. R. A. A. A review on functional ingredients in red meat products. **Bioinformation**, v. 15, n. 5, p. 358, 2019.

KENNY, M. Safety and quality. In: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). **Milk and dairy products in human nutrition**. FAO: Rome, p. 243-273, 2013.

KHARCHOUFI, S.; PARAFATI, L.; LICCIARDELLO, F.; MURATORE, G.; HAMDI, M. CIRVILLERI, G.; RESTUCCIA, C. Edible coatings incorporating pomegranate peel extract and biocontrol yeast to reduce *Penicillium digitatum* postharvest decay of oranges. **Food Microbiology**, v. 74, p. 107-112, 2018.

KHODAYARI, M.; BASTI, A. A.; KHANJARI, A.; MISAGHI, A.; KAMKAR, A.; SHOTORBANI, P. M.; HAMED, H. Effect of poly (lactic acid) films incorporated with different concentrations of *Tanacetum balsamita* essential oil, propolis ethanolic extract and cellulose nanocrystals on shelf life extension of vacuum-packed cooked sausages. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 19, p. 200-209, 2019.

KHORSANDI, A.; ESKANDARI, M. H.; AMINLARI, M.; SHEKARFOROUSH, S. S.; GOLMAKANI, M. T. Shelf-life extension of vacuum packed emulsion-type sausage using combination of natural antimicrobials. **Food Control**, v. 104, p. 139-146, 2019.

KIKI, M. J. In Vitro antiviral potential, antioxidant, and chemical composition of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil. **Molecules**, v. 28, n. 6, p. 2421, 2023.

KOCIĆ-TANACKOV, S.; DIMIĆ, G.; ĐERIĆ, N.; MOJOVIĆ, L.; TOMOVIĆ, V.; ŠOJIC, B.; VUKOVIĆ, A. Đ.; PEJIN, J. Growth control of molds isolated from smoked fermented sausages using basil and caraway essential oils, in vitro and in vivo. **Food Science Technology**, v. 123, p. 109095, 2020.

KONG, J.; ZHANG, Y.; JU, J.; XIE, Y.; GUO, Y.; CHENG, Y.; QIAN, H.; QUEK, S. Y.; YAO, W. Antifungal effects of thymol and salicylic acid on cell membrane and mitochondria of *Rhizopus stolonifer* and their application in postharvest preservation of tomatoes. **Food Chemistry**, v. 285, p. 380-388, 2019.

KRITCHENKOV, A. S.; KLETSKOV, A. V.; GOROV, A. R.; TSKHOVREBOV, A. G.; KURLIUK, A. V.; ZHALIAZNIAK, N. V.; SHAKOLA, T. V.; KKHRUSTALEV, V. N. New water-soluble chitin derivative with high antibacterial properties for potential application in active food coatings. **Food Chemistry**, v. 343, p. 128696, 2021.

KUMAR, R. N.; BHIMA, B.; KUMAR, P. U.; GHOSH, S. Bio-control of *Salmonella* spp. in carrot salad and raw chicken skin using lytic bacteriophages. **Food Science Technology**, v. 122, p. 109039, 2020.

LAGES, L. Z.; RADÜNZ, M.; GONÇALVES, B. T.; DA ROSA, R. S.; FOUCHY, M. V.; GULARTE, M. A.; GANDRA, E. A. Avaliação microbiológica e sensorial de linguiça cárnea utilizando óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*, L.) e suco de beterraba em pó (*Beta vulgaris* L., cultivar Early Wonder). **Food Science and Technology**, v. 148, p. 111794, 2021.

LEE, E. S.; SONG, H. G.; CHOI, I.; LEE, J. S.; HAN, J. Effects of mung bean starch/guar gum-based edible emulsion coatings on the staling and safety of rice cakes. **Carbohydrate Polymers**, v. 247, p. 116696, 2020.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: Properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 37, p. 106-26, 2012.

LIM, J. Y.; LEE, C. L.; KIM, G. H.; BANG, Y. J.; RHIM, J. W.; YOON, K. S. Using lactic acid bacteria and packaging with grapefruit seed extract for controlling *Listeria monocytogenes* growth in fresh soft cheese. **Journal of dairy science**, v. 103, n. 10, p. 8761-8770, 2020.

LIMA, A. B. S. D.; QUEIROGA, I. M. B. N.; SILVA, G. M. D. S.; COSTA, J. S. D.; GUEDES, J. P. D. S.; DANTAS, C. D. O.; CAVALCANTI, M. T. Characterization and application of *Lippia alba* (Mill) and *Cymbopogon citratus* DC Stapf. essential oils as natural sanitizers in coriander. **Food Science and Technology**, v. 39, p. 993-998, 2019.

LIMA, L. R.; ANDRADE, F. K.; ALVES, D. R.; MORAIS, S. M.; VIEIRA, R. S. Anti-acetylcholinesterase and toxicity against *Artemia salina* of chitosan microparticles loaded

with essential oils of *Cymbopogon flexuosus*, *Pelargonium* x ssp and *Copaifera officinalis*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 167, p. 1361-1370, 2021.

LIMA, L. R.; SANTOS, D. B.; SANTOS, M. V.; BARUD, H. S.; HENRIQUE, M. A.; PASQUINI, D.; PECORARO, E.; RIBEIRO, S. J. L. Nanocristais de celulose a partir de celulose bacteriana. **Química Nova**, v. 38, n. 9, p. 1140-1147, 2015.

LIN, D.; LIU, Z.; SHEN, R.; CHEN, S.; YANG, X. Bacterial cellulose in food industry: Current research and future prospects. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 158, p. 1007-1019, 2020.

LINDSAY, D.; ROBERTSON, R.; FRASER, R.; ENGSTROM, S.; JORDAN, K. Heat induced inactivation of microorganisms in milk and dairy products. **International Dairy Journal**, v. 121, p. 105096, 2021.

LINDSTEDT, B. A.; FINTON, M. D.; PORCELLATO, D.; BRANDAL, L. T. High frequency of hybrid *Escherichia coli* strains with combined Intestinal Pathogenic *Escherichia coli* (IPEC) and Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) virulence factors isolated from human faecal samples. **BMC Infectious Diseases**, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2018.

LIU, X.; ZHANG, C.; LIU, S.; GAO, J.; CUI, S. W.; XIA, W. Coating white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) with edible fully deacetylated chitosan incorporated with clove essential oil and kojic acid improves preservation during cold storage. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 162, p. 1276-1282, 2020.

LORENZO, J. M.; PATEIRO, M. Influence of type of muscles on nutritional value of foal meat. **Meat Science**, v. 93, n. 3, p. 630-638, 2013.

LU, W.; CHEN, M.; CHENG, M.; YAN, X.; ZHANG, R.; KONG, R.; WANG, J.; WANG, X. Development of antioxidant and antimicrobial bioactive films based on oregano essential oil/mesoporous nano-silica/sodium alginate. **Food Packag. Shelf Life**, v. 29, Article 100691, 2021.

MACWAN, S. R.; DABHI, B. K.; APARNATHI, K. D.; PRAJAPATI, J. B. Essential oils of herbs and spices: Their antimicrobial activity and application in preservation of food. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 5, n. 5, p. 885-901, 2016.

MAGALDI, S.; CAMERO, T. Susceptibilidad de *Candida albicans* 'in vitro' mediante los pozos de difusión. **Boletín Venezolano de Infectología**, v. 7, n. 1, p. 5-8, 1997.

MAGALDI, S.; MATA, S.; HARTUNG, C.; VERDE, G.; SPENCER, L.; MATA, S. In vitro susceptibility to fluconazole of *Candida* spp. isolates comparing three different methods. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 11, n. 3, p. 123-126, 2001.

MAHDAVI-ROSHAN, M.; GHEIBI, S.; POURFARZAD, A. Effect of propolis extract as a natural preservative on quality and shelf life of marinated chicken breast (chicken Kebab). **LWT - Food Science and Technology**, v. 155, p. 112942, 2022.

MAIA JÚNIOR, J. D. A.; DA COSTA HENRY, F.; SANTOS JÚNIOR, A. C.; DE OLIVEIRA, N. C.; REGIS, S. A.; DELLA LÚCIA, S. M.; QUIRINO, C. R. Efeito da redução do teor de gordura e NaCl nas características físico-químicas, cor e textura instrumental de linguiça defumada ovina. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 3, p. 1697-1712, 2020.

MAJOU, D.; CHRISTIEANS, S. Mechanisms of the bactericidal effects of nitrate and nitrite in cured meats. **Meat Science**, v. 145, p. 273-284, 2018.

MANIKANDAN, M.; BALASUBRAMANIAM, R.; CHUN, S. C. A single-step purification of Cauliflower lysozyme and its dual role against bacterial and fungal plant pathogens. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 177, p. 556-566, 2015.

MANRIQUE, P.; DILLS, M. Y.; YOUNG, M. J. The human gut phage community and its implications for health and disease. **Viruses**, v. 9, n. 6, p. 141, 2017.

MARCHESE, A.; ORHAN, I. E.; DAGLIA, M.; BARBIERI, R.; DI LORENZO, A.; NABAVI, S. F.; GORTZI, O.; IZADI, M.; NABAVI, S. M. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. **Food Chemistry**, v. 210, p. 402-414, 2016.

MARTÍNEZ, A.; ROJAS, N.; GARCÍA, L.; GONZÁLEZ, F.; DOMÍNGUEZ, M.; CATALÁN, A. In vitro activity of terpenes against *Candida albicans* and ultrastructural alterations. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Radiology**, v. 118, p. 553-559, 2014.

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

MENDES, V. C.; BARROS, M. G.; AGUIAR, V. S. Botões florais do cravo-da-índia: extração e aplicação de seu óleo essencial como agente larvicida no combate à dengue. **Journal of Innovation and Science: Research and Application**, v. 1, n. 1, p. 12, 2021.

MENDONÇA, A.; JACKSON-DAVIS, A.; MOUTIQ, R.; THOMAS-POPO, E. Use of natural antimicrobials of plant origin to improve the microbiological safety of foods. **Food and Feed Safety Systems and Analysis**. Academic Press, 2018. p. 249-272.

MILADI, H.; ZMANTAR, T.; CHAABOUNI, Y.; FEDHILA, K.; BAKHROUF, A.; MAHDOUANI, K.; CHAIEB, K. Antibacterial and efflux pump inhibitors of thymol and carvacrol against food-borne pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 99, p. 95-100, 2016.

MIZI, L.; COFRADES, S.; BOU, R.; PINTADO, T.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; ZAIDI, F.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Antimicrobial and antioxidant effects of combined high pressure processing and sage in beef burgers during prolonged chilled storage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 51, p. 32-40, 2019.

MOATSOU, G.; MOSCHOPOULOU, E.; BEKA, A.; TSERMOULA, P.; PRATSI, D. Effect of natamycin-containing coating on the evolution of biochemical and microbiological

parameters during the ripening and storage of ovine hard-Gruyère-type cheese. **International Dairy Journal**, v. 50, p. 1-8, 2015.

MOGHADDASI, M.; KASHANI H. Ginger (*Zingiber officinale*): A review. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 6, n. 26, p. 4255–4258, 2012.

MOHAMED, M. A.; SIDDIG, E. E.; ELAAGIP, A. H.; EDRIS, A. M. M.; NASR, A. A. Parasitic contamination of fresh vegetables sold at central markets in Khartoum state, Sudan. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 15, p. 1-7, 2016.

MOHAMMADKAZEMI, F.; AZIN, M.; ASHORI, A. Production of bacterial cellulose using different carbon sources and culture media. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 518-523, 2015.

MOHANTY, A.; MOHAPAIRA, K. C.; PAL, B. B. Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from skin and soft tissue infection in sepsis cases, Odisha. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v. 12, p. 419–424, 2018.

MONTEIRO, M. R.; KUGELMEIER, C. L.; PINHEIRO, R. S.; BATALHA, M. O.; DA SILVA CÉSAR, A. Glycerol from biodiesel production: Technological paths for sustainability. **Sustainable Energy Reviews**, v. 88, p. 109–122, 2018.

MOSTAFAVI, F. S.; ZAEIM, D. Agar-based edible films for food packaging applications -A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 159, p. 1165–76, 2020.

MURRIETA-MARTÍNEZ, C. L.; SOTO-VALDEZ, H.; PACHECO-AGUILAR, R.; TORRES ARREOLA, W.; RODRÍGUEZ-FELIX, F.; MÁRQUEZ-RÍOS, E. Edible protein films: Sources and behavior. **Packaging Technology and Science**, v. 31, n. 3, p. 113-122, 2018.

NAIR, M. S.; TOMAR, M.; PUNIA, S.; KUKULA-KOCH, W.; KUMAR, M. Enhancing the functionality of chitosan-and alginate-based active edible coatings/films for the preservation of fruits and vegetables: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 304-320, 2020.

NANA, W. L.; EKE, P.; FOKOM, R.; BAKANRGA-VIA, I.; BEGOUDE, D.; TCHANA, T.; TCHAMENI, N. S.; KUATE, J.; MENUT, C.; BOYOM, F. F. Antimicrobial activity of *Syzygium aromaticum* and *Zanthoxylum xanthoxyloides* essential oils against *Phytophthora megakarya*. **Journal of Phytopathology**, v. 163, n. 7-8, p. 632-641, 2015.

NASCIMENTO, R. S.; FONSECA, A. B. M.; FRANCO, R. M.; MIRANDA, Z. B. Linguiças frescas elaboradas com carne de avestruz: características físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 42, n. 1, p. 184-188, 2012.

NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; DE MARTINO, L.; COPPOLA, R.; DE FEO, V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, v. 6, p. 1451-1474, 2013.

NEGI, P. S. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. **International Journal of Food Microbiology**, v. 156, n. 1, p. 7-17, 2012.

NIAZ, B.; SAEED, F.; AHMED, A.; IMRAN, M.; MAAN, A. A.; KHAN, M. K. I.; TUFAIL, T.; ANJUM, F. M.; HUSSAIN, S.; SULERIA, H. A. R. Lactoferrin (LF): a natural antimicrobial protein. **International Journal of Food Properties**, v. 22, n. 1, p. 1626-1641, 2019.

NICÁCIO, G. L. S.; MOURA, S. C.; COSTA, J. V. J.; SENA, C. R.; CRUZ, T. B. F.; LOPES, G. N. M.; CECÍLIO, A. B. Breve revisão sobre as propriedades fitoterápicas do *Zingiber officinale* Roscoe – o gengibre. **Sinapse Múltipla**, v. 7, n. 2, p. 74-80, 2018.

NIJS, A.; CARTUYVELS, R.; MEWIS, A.; PEETERS, V.; RUMMENS, J. L.; MAGERMAN, K. Comparison and evaluation of osiris and sirscan 2000 antimicrobial susceptibility systems in the clinical microbiology laboratory. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 8, p. 3627-3630, 2003.

NIKMARAN, N.; BUDARAJU, S.; BARBA, F. J.; LORENZO, J. M.; COX, R. B.; MALLIKARJUNAN, K.; ROOHINEJAD, S. Application of plant extracts to improve the shelf-life, nutritional and health-related properties of ready-to-eat meat products. **Ciência da Carne**, v. 145, p. 245–255, 2018.

NIRO, S.; SUCCI, M.; TREMONTE, P.; SORRENTINO, E.; COPPOLA, R.; PANFILI, G.; FRATIANNI, A. Evolution of free amino acids during ripening of Caciocavallo cheeses made with different milks. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 9521-9531, 2017.

NISAR, M. F.; KHADIM, M.; RAFIQ, M.; CHEN, J.; YANG, Y.; WAN, C. C. Pharmacological properties and health benefits of eugenol: A comprehensive review. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2021, 2021.

NOOR, S.; BHAT, Z. F.; KUMAR, S.; MUDIYANSELAGE, R. J. Preservative effect of *Asparagus racemosus*: A novel additive for bioactive edible films for improved lipid oxidative stability and storage quality of meat products. **Meat Science**, v. 139, p. 207-212, 2018.

ODJO, K.; AL-MAQTARI, Q. A.; YU, H.; XIE, Y.; GUO, Y.; LI, M.; YAO, W. Preparation and characterization of chitosan-based antimicrobial films containing encapsulated lemon essential oil by ionic gelation and cranberry juice. **Food Chemistry**, v. 397, p. 133781, 2022.

OLATUNDE, O. O.; BENJAKUL, S. Natural preservatives for extending the shelf-life of seafood: A revisit. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 6, p. 1595-1612, 2018.

OLIVEIRA FILHO, J. D.; BRAGA, A.; OLIVEIRA, B. D.; GOMES, F.; MOREIRA, V.; PEREIRA, V.; EGEEA, M. The potential of anthocyanins in smart, active, and bioactive eco-friendly polymer-based films: A review. **Food Research International**, v. 142, p. 110202, 2021.

OLIVEIRA, F. S. Análise epidemiológica do perfil bacteriano envolvido nas Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), na região Nordeste do Brasil para o ano de 2019. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 11, e428101119855, 2021.

OLIVEIRA, J. A. C.; DE LIMA, R. K.; SOBRAL, M. E. G.; LYON, J. P.; DE REZENDE, R. R.; ALVES, P. B.; LIMA, R. N. Composição química e avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *Hyptidendron canum* (Pohl ex Benth.) R. Harley. **Revista da Biologia**, v. 22, n. 1, p. 1-6, 2022.

OLIVEIRA, M. S.; COSTA, W. A.; PEREIRA, D. S.; BOTELHO, J. R. S.; MENEZES, T. O. A.; ANDRADE, E. H. A.; SILVA, S. H. M.; SOUSA FILHO, A. P. S.; CARVALHO JUNIOR, R. N. Chemical composition and phytotoxic activity of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil obtained with supercritical CO<sub>2</sub>. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 118, p. 185-193, 2016.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Doenças transmitidas por alimentos**, 2022. Disponível em: <[https://www.who.int/health-topics/foodborne-diseases#tab=tab\\_2](https://www.who.int/health-topics/foodborne-diseases#tab=tab_2)>. Acesso em: 13 janeiro 2023.

OSHIMA, S.; HIRANO, A.; KAMIKADO, H.; NISHIMURA, J.; KAWAI, Y.; SAITO, T. Nisin A extends the shelf life of high-fat chilled dairy dessert, a milk-based pudding. **Journal of Applied Microbiology**, v. 116, n. 5, p. 1218-1228, 2014.

OSTROSKY, E. A.; MARCONDES, E. M. C.; NISHIKAWA, S. O.; LOPES, P. S.; VARCA, G. H. C.; PINTO, T. J. A.; CONSIGLIERI, T. V. O.; BEBÊ, A. R.; VELASCO, M. V. R.; KANEKO, T. M. Rubus rosaefolius extract as a natural preservative candidate in topical formulations. **AAPS PharmSciTech**, v. 12, n. 2, p. 732-737, 2011.

ÖZER, D. E. The effects of propolis and nisin on *Listeria monocytogenes* in contaminated ice cream. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 8, p. e14598, 2021.

PANDEY, A. K.; KUMAR, P.; SINGH, P.; TRIPATHI, N. N.; BAJPAI, V. K. Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 2161, 2017.

PARREIDT, T. S.; MULLER, K.; SCHMID, M. Alginate-based edible films and coatings for food packaging applications. **Foods**, v. 7, n. 10, p. 170, 2018.

PAXIMADA, P.; DIMITRAKOPOULOU, E. A.; TSOUKO, E.; KOUTINAS, A. A., FASSEAS, C.; MANDALA, I. G. Structural modification of bacterial cellulose fibrils under ultrasonic irradiation. **Carbohydrate Polymers**, v. 150, p. 5-12, 2016.

PEÑA-GÓMEZ, N.; RUIZ-RICO, M.; FERNANDEZ-SEGOVIA, I.; BARAT, J. M. Study of apple juice preservation by filtration through silica microparticles functionalised with essential oil components. **Food Control**, v. 106, p. 106749, 2019.

PEREIRA, A. L. S.; FEITOSA, J. P. A.; MORAIS, J. P. S.; ROSA, M. DE F. Bacterial cellulose aerogels: Influence of oxidation and silanization on mechanical and absorption properties, **Carbohydrate Polymers**, v. 250, p. 116927, 2020.

PEZESHK, S.; OJAGH, S. N.; ALISHAHI, A. Effect of plant antioxidant and antimicrobial compounds on the shelf-life of seafood-a review. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 33, n. 3, p. 195-203, 2015.

- PILEVAR, Z.; HOSSEINI, H.; ABDOLLAHZADEH, E.; SHOJAEE-ALIABADI, S.; TAJEDIN, E.; YOUSEFI, M.; BAHRAMI, A.; KHOSROSHAHI, N. K. Effect of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil, time, and temperature on the expression of *Listeria monocytogenes* virulence genes in broth and minced rainbow trout. **Food Control**, v. 109, p. 106863, 2020.
- PINHEIRO, P. F.; CHAVES, B. V.; SILVA, P. I.; LUCIA, S. M. D.; SARAIVA, S. H.; PINHEIRO, C. A. Óleos essenciais de manjeriço e gengibre na aromatização de azeite de oliva. **Nucleus**, v. 14, n. 1, p. 189-195, 2017.
- PISOSCHI, A. M.; POP, A.; GEORGESCU, C.; GEORGESCU, C.; TURCUȘ, V.; OLAH, N. K.; MATHE, E. An overview of natural antimicrobials role in food. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 143, p. 922-935, 2018.
- POIREL, L.; JAYOL, A.; NORDMANN, P. Polymyxins: Antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 30, n. 2, p. 557-596, 2017.
- POMBO, J. C. P.; RIBEIRO, E. R.; PINTO, R. L.; SILVA, B. J. M. Efeito antimicrobiano e sinérgico de óleos essenciais sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 25, n. 2, p. 108-117, 2018.
- POUPARD, J. A.; RITTENHOUSE, S. F.; WALSH, L. R. The evolution of antimicrobial susceptibility testing methods. **Antimicrobial Susceptibility Testing: Critical Issues for the 90s**, p. 3-14, 1994.
- PREEDY, V. R. **Essential oils in food preservation, flavor and safety**. Londres: Academic press, 2015.
- PRINCE, A.; SANDHU, P.; KUMAR, P.; DASH, E.; SHARMA, S.; ARAKHA, M. JHA, S.; AKHTER, Y.; SALEEM, M. Lipid-II independent antimicrobial mechanism of nisin depends on its crowding and degree of oligomerization. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 37908, 2016.
- QUINTO, E. J.; CARO, I.; VILLALOBOS-DELGADO, L. H.; MATEO, J.; DE-MATEOSILLERAS, B.; REDONDO-DEL-RIO, M. P. Food safety through natural antimicrobials. **Antibiotics**, v. 8, n. 4, p. 208, 2019.
- RADÜNZ, M.; DA TRINDADE, M. L. M.; CAMARGO, T. M.; RADÜNZ, A. L.; BORGES, C. D.; GANDRA, E. A.; HELBIG, E. Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. **Food chemistry**, v. 276, p. 180-186, 2019.
- RIBEIRO, J. S.; SANTOS, M. J. M. C.; SILVA, L. K. R.; PEREIRA, L. C. L.; SANTOS, I. A.; DA SILVA LANNES, S. C.; DA SILVA, M. V. Natural antioxidants used in meat products: A brief review. **Meat Science**, v. 148, p. 181-188, 2019a.
- RIBEIRO, A.; OLIVEIRA, A.; OLIVEIRA, A.; OLIVEIRA, E.; HENNION, F. Variações de metabólitos secundários entre populações naturais de espécies de ranúnculos subantárticos sugerem redundância funcional e versatilidade. **Plantas**, v. 8, p. 234, 2019b.

RIBES, S.; FUENTES, A.; BARAT, J. M. Effect of oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*) and clove (*Eugenia* spp.) nanoemulsions on *Zygosaccharomyces bailii* survival in salad dressings. **Food Chemistry**, v. 295, p. 630-636, 2019.

RODRIGO, D.; PALOP, A. Applications of natural antimicrobials in food packaging and preservation. **Foods**, v. 10, n. 3, p. 568, 2021.

RODRIGUEZ-GARCIA, I.; SILVA-ESPINOZA, B.; ORTEGA-RAMIREZ, L.; LEYVA, J.; SIDDIQUI, M.; CRUZ-VALENZUELA, M.; GONZALEZ-AGUILAR, G.; AYALA-ZAVALA, J. F. Oregano essential oil as an antimicrobial and antioxidant additive in food products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 56, n. 10, p. 1717-1727, 2016.

SAFAEI, M.; ROOSTA AZAD, R. Preparation and characterization of poly-lactic acid-based films containing propolis ethanolic extract to be used in dry meat sausage packaging. **Journal of Food Science and Technology**, v. 57, p. 1242-1250, 2020.

SAHANI, S.; SHARMA, Y. C. Advancements in applications of nanotechnology in global food industry. **Food Chemistry**, v. 342, p. 128318, 2021.

SAKWANICHOL, J.; SUNGTHONGJEEN, S.; PUTTIPIPATKHACHORN, S. Preparation and characterization of chitosan aqueous dispersion as a pharmaceutical film forming material. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 54, p. 101230, 2019.

SALÁKOVÁ, A.; KALHOTKA, L.; JŮZL, M.; BURDOVÁ, E.; RŮŽIČKOVÁ, G.; PŠENIČKOVÁ, Z. Obr. T. Evaluation of selected parameters of edam type cheese packed under foil with natural antimicrobial agents. **Potravinářstvo**, v. 13, n. 1, 2019.

SALAMA, H. E.; AZIZ, M. S. A.; SABAA, M. W. Novel biodegradable and antibacterial edible films based on alginate and chitosan biguanidine hydrochloride. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 116, p. 443-450, 2018.

SALANT, L. C.; CROPOTOVA, J. An Update on Effectiveness and Practicability of Plant Essential Oils in the Food Industry. **Plants**, v. 11, p. 2488, 2022.

SALLAM, K. I.; ABD-ELGHANY, S. M.; IMRE, K.; MORAR, A.; HERMAN, V.; HUSSEIN, M. A.; MAHROS, M. A. Ensuring safety and improving keeping quality of meatballs by addition of sesame oil and sesamol as natural antimicrobial and antioxidant agents. **Food Microbiology**, v. 99, p. 103834, 2012.

SALVI, P.; KUMAR, G.; GANDASS, N.; VERMA, A.; RAJARAMMOHAN, S.; RAI, N.; GAUTAM, V. Antimicrobial potential of essential oils from aromatic plant *Ocimum* sp.; A comparative biochemical profiling and in-silico analysis. **Agronomy**, v. 12, n. 3, p. 627, 2022.

SANTURIO, J. M.; SANTURIO, D. F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P. R.; ALVES, S. H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 803-808, 2019.

- SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 275-280, 2004.
- SCHELIN, J.; WALLIN-CARLQUIST, N.; COHN, M. T.; LINDQVIST, R.; BARKER, G. C.; RÅDSTRÖM, P. The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment, **Virulence**, v. 2, p. 580-592, 2011.
- SEBAA, S.; HIZETTE, N.; BOUCHERIT-OTMANI, Z.; COURTOIS, P. Dose-dependent effect of lysozyme upon *Candida albicans* biofilm. **Molecular Medicine Reports**, v. 15, n. 3, p. 1135-1142, 2017.
- SELLES, S. M. A.; KOUIDRI, M.; BELKACEM TAHAR BELHAMITI, B. T.; AMRANE, A. A. Chemical composition, in-vitro antibacterial and antioxidant activities of *Syzygium aromaticum* essential oil. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 14, n. 4, p. 2352-2358, 2020.
- SERRANO-AROCA, Á.; RUIZ-PIVIDAL, J. F.; LLORENS-GÁMEZ, M. Enhancement of water diffusion and compression performance of crosslinked alginate with a minuscule amount of graphene oxide, **Scientific Reports**, v. 7, p. 11684, 2017.
- SFM ANTIBIOGRAM COMMITTEE. Antibioqram Committee. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie report 2003. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 4, p. 364-391, 2003.
- SHAABAN, H. A. Essential oil as antimicrobial agents: Efficacy, stability, and safety issues for food application. **Essential Oils-Bioactive Compounds, New Perspectives and Applications**, p. 1-33, 2020.
- SHI, Z.; ZHANG, Y.; PHILLIPS, G. O.; YANG, G. Utilization of bacterial cellulose in food. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 539–545, 2014.
- SHIMAZU, A. A.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Efeitos plastificante e antiplastificante do glicerol e do sorbitol em filmes biodegradáveis de amido de mandioca. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 1, p. 79-88, 2007.
- SIERRA, I. Aportación al estudio del cruce Blanco belga x Landrace: caracteres productivos, calidad de la canal y de la carne. **Revista del Instituto de Economía y Producciones ganaderas del Ebro**, v. 43, 1973.
- SILVA, A. J.; OLIVEIRA, L. P.; REZENDE, J. C. P.; SARAIVA, I. S. Avaliação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais obtidos de diferentes fabricantes. **Sinapse Múltipla**, v. 8, n. 1, p. 33-40, 2019.
- SILVA, F. T.; DA CUNHA, K. F.; FONSECA, L. M.; ANTUNES, M. D.; EL HALAL, S. L. M.; FIORENTINI, Â. M.; DIAS, A. R. G. Action of ginger essential oil (*Zingiber officinale*) encapsulated I ultrafine fibers on the antimicrobial control in situ. **International journal of biological macromolecules**, v. 118, p. 107-115, 2018.

- SILVA, J. G. D.; SANTOS, L. A.; RUFINO, L. R. A.; FIORINI, J. E.; OLIVEIRA, N. D. M. S. Avaliação microbiológica de salames industrializados e artesanais comercializados na cidade de Alfenas MG. **Higiene Alimentar**, p. 74-78, 2016.
- SILVA, W. C.; GOMES, T. T. O.; MOREIRA, E. Relação entre o consumo de embutidos de carne e o desenvolvimento de câncer no trato digestório. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 8, n. 1, p. 537-545, 2022.
- SILVESTRI, J. D. F.; PAROUL, N.; CZYEWski, E.; LERIN, L.; ROTAVA, I.; CANSIAN, R. L.; TREICHEL, H. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). **Revista Ceres**, v. 57, p. 589-594, 2010.
- SIMON-BROWN, K.; SOLVAL, K. M.; CHOTIKO, A.; ALFARO, L.; REYES, V.; LIU, C.; SATHIVEL, S. Microencapsulation of ginger (*Zingiber officinale*) extract by spray drying technology. **Food Science and Technology**, v. 70, p. 119-125, 2016.
- SIRIPATRAWAN, U.; MAKINO, Y. Simultaneous assessment of various quality attributes and shelf life of packaged bratwurst using hyperspectral imaging. **Meat science**, v. 146, p. 26-33, 2018.
- SOARES, E. F. M. S.; CARLOS, D. F. L. P.; EPIFANIO, N. M. D. M.; COUMENDOUROS, K.; CID, Y. P.; CHAVES, D. S. D. A.; CAMPOS, D. R. Insecticidal activity of essential oil of *Cannabis sativa* against the immature and adult stages of *Ctenocephalides felis*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 32, 2023.
- SOKAMTE, T. A.; JAZET, D. P. M.; TATSADJIEU, N. L. In vitro activity of *Syzygium aromaticum* against food spoilage fungi and its potential use as an antiradical agent. **Journal of Microbiology**, v. 6, n. 1, p. 1-7, 2016.
- SOUZA, C. P. Segurança alimentar e doenças veiculadas por alimentos: utilização do grupo coliforme como um dos indicadores de qualidade de alimentos. **Revista APS**, v. 9, n.1, p. 83-88, 2006.
- SOUZA, E. L. The effects of sublethal doses of essential oils and their constituents on antimicrobial susceptibility and antibiotic resistance among food-related bacteria: A review. **Trends in Food Science and Technology**, v. 56, p. 1-12, 2016.
- SOUZA, V. G. L.; PIRES, J. R. A.; VIEIRA, E. T.; COELHO, I. M.; DUARTE, M. P.; FERNANDO, A. L. Activity of chitosan-montmorillonite bionanocomposites incorporated with rosemary essential oil: From in vitro assays to application in fresh poultry meat. **Food Hydrocolloids**, v. 89, p. 241-252, 2019.
- SPRICIGO, D. A.; BARDINA, C.; CORTES, P.; LLAGOSTERA, M. Use of a bacteriophage cocktail to control *Salmonella* in food and the food industry. **International Journal of Food Microbiology**, v. 165, n. 2, p. 169-174, 2013.
- STANDARD TEST METHOD. **Standard Test Method for Water Vapor Transmission of Materials**, E96-00 (2000), ASTM International, West Conshohocken, PA, 2000

SU, L.; HUANG, J.; LI, H.; PAN, Y.; ZHU, B.; ZHAO, Y.; LIU, H. Chitosan-riboflavin composite film based on photodynamic inactivation technology for antibacterial food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 172, p. 231-240, 2021.

SULTANBAWA, Y. Plant antimicrobials in food applications: Mini review. **Science against microbial pathogens: Communicating current research and technological advances**, v. 2, p. 1084-99, 2011.

SUNTRES, Z. E.; COCCIMIGLIO, J.; ALIPOUR, M. The bioactivity and toxicological actions of carvacrol. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 3, p. 304-318, 2015.

SUURS, P.; BARBUT, S. Collagen use for co-extruded sausage casings—A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 102, p. 91-101, 2020.

SYUHAIHAH, A.; HUDA, N.; SYAHARIZA, Z.; AFAZILAH, A. Effects of vegetable incorporation on physical and sensory characteristics of sausages. **Asian Journal of Poultry Science**, v. 10, n. 3, p. 117-125, 2016.

TAJKARIMI, M. M.; IBRAHIM, S. A.; CLIVER, D. O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. **Food Control**, v. 21, p. 1199-218, 2010.

TANG, J.; LIU, Y.; LI, H.; WANG, L.; HUANG, K.; CHEN, Z. Combining an antagonistic yeast with harpin treatment to control postharvest decay of kiwifruit. **Biological Control**, v. 89, p. 61-67, 2015.

TARIQ, S.; WANI, S.; RASOOL, W.; BHAT, M. A.; PRABHAKAR, A.; SHALLA, A. H.; RATHER, M. A. A comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. **Microbial Pathogenesis**, v. 134, p. 103580, 2019.

THAKUR, V. K.; THAKUR, M. K. Recent advances in graft copolymerization and applications of chitosan: a review. **ACS Sustainable Chemistry & Engineering**, v. 2, n. 12, p. 2637-2652, 2014.

THOMAS-POPO, E.; MENDONÇA, A.; DICKSON, J.; SHAW, A.; COLEMAN, S.; DARABA, A.; JACKSON-DAVIS, A.; WOODS, F. Isoeugenol significantly inactivates *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella enterica*, and *Listeria monocytogenes* in refrigerated tyndallized pineapple juice with added *Yucca schidigera* extract. **Food Control**, v. 106, p. 106727, 2019.

TIAN, B.; LI, W.; WANG, J.; LIU, Y. Functional polysaccharide-based film prepared from chitosan and  $\beta$ -acids: Structural, physicochemical, and bioactive properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 181, p. 966–977, 2021.

TOMÉ, L. C.; BRANDÃO, L.; MENDES, A. M.; SILVESTRE, J. A. D.; NETO, C. P.; GANDINI, A.; FREIRE, C.S.R.; MARRUCHO, I. M. Preparation and characterization of bacterial cellulose membranes with tailored surface and barrier. **Celulose**, v. 17, n. 6, 1203-1211, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

TRENTINI, E. M.; MACEDO, R. E. F. Uso de nitrato e nitrito de sódio em produto cárneo fresco: uma abordagem científica. **Brazilian Journal of Technology**, v. 2, n. 4, p. 1017-1041, 2019.

TRINDADE, R. A.; LIMA, A.; ANDRADE-WARTHA, E. R.; SILVA, A. O.; MANCINI-FILHO, J.; VILLAVICENCIO, A. L. Consumer's evaluation of the effects of gamma irradiation and natural antioxidants on general acceptance of frozen beef burger. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 78, n. 4, p. 293-300, 2009.

TSIRAKI, M. I.; SAVVAIDIS, I. N. Citrus extract or natamycin treatments on "Tzatziki"-A traditional Greek salad. **Food Chemistry**, v. 142, p. 416-422, 2014.

ULANOWSKA, M.; OLAS, B. Biological properties and prospects for the application of eugenol—a review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 3671, 2021.

UMARAW, P.; MUNEKATA, P.; VERMA, A.; BARBA, F.; SINGH, V.; KUMAR, P.; LORENZO, J. Edible films/coating with tailored properties for active packaging of meat, fish and derived products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 98, p. 10-24, 2020.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Economics of foodborne disease: Estimating the benefits of reducing foodborne disease**. Economic Research Service, U.S. Department of Agriculture. 2014. Disponível em: <<http://www.ers.usda.gov/data-products/cost-estimates-of-foodborne-illnesses.aspx>>. Acesso em: 20 novembro 2021.

VAFANIA, B.; FATHI, M.; SOLEIMANIAN-ZAD, S. Nanoencapsulation of thyme essential oil in chitosan-gelatin nanofibers by nozzle-less electrospinning and their application to reduce nitrite in sausages. **Food and Bioprocess Technology**, v. 116, p. 240-248, 2019.

VASKOSKA, R.; HA, M.; ONG, L.; CHEN, G.; WHITE, J.; GRAS, S. Myosin sensitivity to thermal denaturation explains differences in water loss and shrinkage during cooking in muscles of distinct fibre types. **Meat Science**, v. 179, p. 108521, 2021.

VÁZQUEZ-ARMENTA, F. J.; SILVA-ESPINOZA, B. A.; CRUZ-VALENZUELA, M. R.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A.; NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; AYALA-ZAVALA, J. F. Antibacterial and antioxidant properties of grape stem extract applied as disinfectant in fresh leafy vegetables. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, p. 3192-3200, 2017.

VERGIS, J.; GOKULAKRISHNAN, P.; AGARWAL, R. K.; KUMAR, A. Essential oils as natural food antimicrobial agents: A review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 10, p. 1320-1323, 2015.

VERSINO, F.; LOPEZ, O. V.; GARCIA, M. A.; ZARITZKY, N. E. Starch-based films and food coatings: An overview. **Starch-Stärke**, v. 68, n. 11-12, p. 1026-1037, 2016.

VIUDA-MARTOS, J. M.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, E.; SAYAS-BARBERA, E.; SENDRA, C.; NAVARRO, J. A.; PÉREZ-ALVAREZ. Citrus co-products as technological strategy to

reduce residual nitrite content in meat products. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 8, p. 93-100, 2009.

VIUDA-MARTOS, Y. M.; RUIZ-NAVAJAS, J.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. A.; PÉREZ-ALVAREZ. Antifungal activity of lemon (*Citrus lemon* L.), mandarin (*Citrus reticulata* L.), grapefruit (*Citrus paradisi* L.) and orange (*Citrus sinensis* L.) essential oils. **Food Control**, v. 19, p. 1130-138, 2018.

VOON, C. H.; BHAT, R.; RUSUL, G. Flower extracts and their essential oils as potential antimicrobial agents for food uses and pharmaceutical applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 11, p. 34-55, 2012.

WANG, Q.; WANG, J.; DING, W.; ZHANG, D.; REED, K.; ZHANG, B. Alternativas aos conservantes carcinogênicos em linguiça chinesa - nanopartículas de quitosana/tripolifosfato carregadas com ácido sórbico. **Revista Internacional de Macromoléculas Biológicas**, v. 120, p. 28-33, 2018a.

WANG, X.; GUO, C.; HAO, W.; ULLAH, N.; CHEN, L.; LI, Z.; FENG, X. Development and characterization of agar-based edible films reinforced with nano-bacterial cellulose. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 118, p. 722-730, 2018b.

WANG, W.; WANG, H.; ZHAO, Z.; HUANG, X.; XIONG, H.; MEI, Z. Thymol activates TRPM8-mediated Ca<sup>2+</sup> influx for its antipruritic effects and alleviates inflammatory response in imiquimod-induced mice. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 407, p. 115247, 2020.

WONG, J. X.; RAMLI, S.; CHEN, S. N. Assessment of toxic effect of *Centella asiatica* extract and its application as natural preservative in fresh-cut mango, pear and cabbage. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 10, p. e15824, 2021.

WU, K.; GAO, R.; TIAN, F.; MAO, Y.; WANG, B.; ZHOU, L.; SHEN, L.; GUAN, Y.; CAI, M. Fatty acid positional distribution (sn-2 fatty acids) and phospholipid composition in Chinese breast milk from colostrum to mature stage. **British Journal of Nutrition**, v. 121, n. 1, p. 65-73, 2019.

XIONG, Y.; CHEN, M.; WARNER, R. D.; FANG, Z. Incorporating nisin and grape seed extract in chitosan-gelatin edible coating and its effect on cold storage of fresh pork. **Food Control**, v. 110, p. 107018, 2020.

YANG, G.; XIE, J.; HONG, F.; CAO, Z.; YANG, X. Antimicrobial activity of silver nanoparticle impregnated bacterial cellulose membrane: effect of fermentation carbon sources of bacterial cellulose. **Carbohydrate Polymers**, v. 87, n. 1, p. 839-845, 2012.

YASIR, M.; NAWAZ, A.; GHAZANFAR, S.; OKLA, M. K.; CHAUDHARY, A.; AL, W. H.; IMRAN, M.; WAHIDAH, H. A. L.; AJMAL, M. N.; ABDELGAWAD, H.; AHMAD, Z.; ABBAS, F.; WADOOD, A.; MANZOOR, Z.; AKHTAR, N.; DIN, M.; HAMEED, Y. Anti-bacterial activity of essential oils against multidrug-resistant foodborne pathogens isolated from raw milk. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, 2022.

YE, R.; XU, H.; WAN, C.; PENG, S.; WANG, L.; XU, H.; AGUILAR, Z. P.; XIONG, Y.; ZENG, Z.; WEI, H. Antibacterial activity and mechanism of action of  $\epsilon$ -poly-L-lysine. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 439, n. 1, p. 148-153, 2013.

YEMMIREDDY, V. K.; CASON, C.; MOREIRA, J.; ADHIKARI, A. Effect of pecan variety and the method of extraction on the antimicrobial activity of pecan shell extracts against different foodborne pathogens and their efficacy on food matrices. **Food Control**, v. 112, p. 107098, 2020.

YUAN, L.; HANSEN, M. F.; RØDER, H. L.; WANG, N.; BURMØLLE, M.; HE, G. Mixed-species biofilms in the food industry: current knowledge and novel control strategies. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 1, p. 1-17, 2019.

ZAHLI, R., ABRINI, J., EL BAABOUA, A., BELMEHDI, O., EL MAADOUDI, M., BADREDINE, S; ISSAOUI, E. K.; SENHAJI, N. S. Synergistic action of *Thymus capitatus* or *Syzygium aromaticum* essential oils and antibiotics combinations against multi-resistant *Salmonella* strains. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 50, p. 102752, 2023

ZAMBRANO-ZARAGOZA, M.; GONZÁLEZ-REZA, R.; MENDOZA-MUÑOZ, N.; MIRANDA-LINARES, V.; BERNAL-COUOH, T.; MENDOZA-ELVIRA, S.; QUINTANAR-GUERRERO, D. Nanosystems in edible coatings: a novel strategy for food preservation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 3, p. 705, 2018.

ZANG, J.; WANG, D.; ZHAO, G. Mechanism of discoloration in processed garlic and onion. **Trends in Food Science & Technology**, v. 30, n. 2, p. 162-173, 2013.

ZHANG, Y.; ZHANG, Y.; JIA, J.; PENG, H.; QIAN, Q.; PAN, Z.; LIU, D. Nitrite and nitrate in meat processing: Functions and alternatives. **Current Research in Food Science**, p. 100470, 2023.

ZHANG, Y.; WANG, Y.; ZHU, X.; CAO, P.; WEI, S.; LU, Y. Antibacterial and antibiofilm activities of eugenol from essential oil of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & LM Perry (clove) leaf against periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. **Microbial Pathogenesis**, v. 113, p. 396–402, 2017.

ZHANG, Y.; LIU, X.; WANG, Y.; JIANG, P.; QUEK, S. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Food Control**, v. 59, p. 282-289, 2016.

ZHAO, R.; CHEN, J.; YU, S.; NIU, R.; YANG, Z.; WANG, H.; CHENG, H.; YE, X.; LIU, D.; WANG, W. Active chitosan/gum Arabic-based emulsion films reinforced with thyme oil encapsulating blood orange anthocyanins: Improving multi-functionality. **Food Hydrocolloids**, v. 134, p. 108094, 2023.

ZHE, T.; SUN, X.; WANG, Q.; LIU, Y.; LI, R.; LI, F.; WANG, L. A screen printed carbon electrode modified with a lamellar nanocomposite containing dendritic silver nanostructures, reduced graphene oxide, and  $\beta$ -cyclodextrin for voltammetric sensing of nitrite. **Microchimica Acta**, v. 186, n. 5, p. 1-8, 2019.

ZHENG, H. B.; HAN, M. Y.; YANG, H. J.; XU, X. L.; ZHOU, G. H. The effect of pressure-assisted heating on the water holding capacity of chicken batters. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 45, p. 280-286, 2018.

ZHOU, Z.; LIU, Y.; LIU, Z.; FAN, L.; DONG, T.; JIN, Y.; SALDAÑA, M. D. A.; SUN, W. Sustained-release antibacterial pads based on nonwovens polyethylene terephthalate modified by  $\beta$ -cyclodextrin embedded with cinnamaldehyde for cold fresh pork preservation. **Food Packag Shelf Life**, v. 26, p. 100554, 2020.