

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Izabela Alves Gomes

**UTILIZAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO COMO ANTIMICROBIANO E
ANTIOXIDANTE NATURAL EM MAIONESE DE BAIXA ACIDEZ**

Rio de Janeiro
2016

Izabela Alves Gomes

**UTILIZAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO COMO ANTIMICROBIANO E
ANTIOXIDANTE NATURAL EM MAIONESE DE BAIXA ACIDEZ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro como requisito para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Orientador: Prof^o Dr Otniel Freitas Silva

Co-orientadora: Dr^a Janine Passos Lima da Silva

Rio de Janeiro
2016

Izabela Alves Gomes

**UTILIZAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO COMO ANTIMICROBIANO E
ANTIOXIDANTE NATURAL EM MAIONESE DE BAIXA ACIDEZ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro como requisito para obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição

Aprovada em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

D.Sc. Otniel Freitas Silva

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

D.Sc. Janine Passos Lima da Silva

Embrapa Agroindústria de Alimentos – CTAA

D.Sc. Lourdes Maria Pessoa Masson

Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia – IFRJ

D.Sc. Valéria Saldanha Bezerra

Embrapa Amapá

D.Sc. Flávia dos Santos Gomes

Embrapa Agroindústria de Alimentos – CTAA

D.Sc. Juliana Côrtes Nunes da Fonseca

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro – UNIRIO

Aos meus pais Lêda e Evandro, e à minha irmã
Isadora por me darem o suporte necessário,
caminhando sempre ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por sua infinita bondade e fidelidade.

A minha família, por todo amor, incentivo e compreensão nos meus “momentos de desespero”. Amo vocês.

Ao meu orientador Dr. Otniel Freitas Silva, por ter me recebido como aluna tão maravilhosamente bem, pela paciência, pelos ensinamentos, conselhos e puxões de orelha que muito enriqueceram esta caminhada. Obrigada por ter confiado no meu potencial. Ser sua aluna foi uma honra.

A minha super co-orientadora Dr^a Janine Passos Lima da Silva, por ter plantado em mim o sonho de fazer o mestrado, por ter acreditado em mim desde que eu era sua estagiária, por ter me inspirado, por todo o carinho, atenção, preocupação (principalmente com a minha saúde), pela experiência compartilhada comigo. Nunca vou esquecer tudo que você fez por mim, palavras nunca serão suficientes para demonstrar toda minha admiração por você.

A todos os pesquisadores e funcionários da Embrapa Agroindústria de Alimentos (Plantas I e II, Laboratório de Microbiologia de Alimentos), em especial Dr^a Valéria Bezerra, Dr^a Flávia Santos, Érika, Selma, Ana Paula, Vanessa, Simone, Wiliam, Agnelli, Filé, Chorão, pelo treinamento em análises, dicas e auxílio em muitos momentos durante as análises.

Aos amigos de laboratório, estagiários e alunos de pós-graduação: Leilson, Náiali, Jéssica, Clarissa, Lívia, André, Lidiane, Aline, Diego, Carol e muitos outros que passaram pela Embrapa, e tornaram os longos dias de análise muito mais divertidos.

A todos os professores do Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição (PPGAN), por terem compartilhado conosco seus conhecimentos em suas disciplinas.

A Prof^a Dr^a Juliana Côrtes Nunes da Fonseca, que me recebeu tão bem como aluna de estágio de docência na disciplina de Higiene de Alimentos e fez eu me apaixonar ainda mais pela docência.

A todos os meus colegas de turma, em especial Lana Rosa que dividiu comigo momentos de tensão, aflição, alegria e muitas risadas.

A coordenadora do Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição (PPGAN), Prof^a Dr^a Édira Castello Branco de Andrade Gonçalves por lutar pelo sucesso do programa e nos incentivar a querer sempre o melhor.

A todos que de alguma forma contribuíram para a construção deste trabalho fica aqui, todo o meu carinho e agradecimento.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

“Porque em verdade vos digo que qualquer que disser a este monte: Ergue-te e lança-te no mar, e não duvidar em seu coração, mas crer que se fará aquilo que diz, tudo o que disser lhe será feito.

Por isso vos digo que todas as coisas que pedirdes, orando, crede receber, e tê-las-eis.”

Marcos 11:23,24

GOMES, I. A. **Utilização de óleo essencial de orégano como antimicrobiano e antioxidante natural em maionese de baixa acidez**. 2016. 73 páginas. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Alimentos e Nutrição). Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, RJ, 2016.

RESUMO

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) são causadas pela ingestão de alimentos ou bebidas contaminados e constituem um problema de saúde pública em todo o mundo. A *Salmonella* spp. é um dos microrganismos mais frequentemente envolvidos em casos e surtos de DTA e os alimentos mais suscetíveis são aqueles que contêm ovos crus ou mal cozidos, como a maionese de baixa acidez também conhecida como maionese caseira. Em virtude da sua composição a maionese de baixa acidez pode apresentar não só problemas causados pela contaminação bacteriana, como também ser suscetível a alterações químicas e físico químicas, pois o óleo de soja (que representa aproximadamente 79% da composição da maionese) torna o produto vulnerável à oxidação lipídica, sendo necessário o uso de aditivos que tenham atividade antioxidante e/ou antimicrobiana. Hoje existe uma forte tendência, chamada de consumismo “verde” onde a sociedade deseja menos aditivos alimentares sintéticos e mais produtos com um menor impacto sobre a saúde humana e o meio ambiente. Por essa razão, o interesse no uso de antioxidantes e antimicrobianos naturais tem aumentado. Neste contexto, o presente trabalho teve como objetivo demonstrar o uso de óleo essencial de orégano como agente antioxidante e antimicrobiano em maionese de baixa acidez mantida sob refrigeração. Para isto, a maionese foi preparada com óleo essencial de orégano (OEO) (na concentração de 0,4%) e foi avaliada a sobrevivência de *Salmonella* Enteritidis na maionese adicionada de OEO assim como a sua aceitação sensorial. Além da comparação o efeito do OEO com o BHT. Os resultados demonstraram que a presença de OEO na maionese retardou o início da rancificação oxidativa em 7 dias, sendo este processo mais lento, em comparação ao BHT, assim como também não houve multiplicação de SE, na amostra sem OEO houve contagem de colônias de 3,20; 3,10; 3,18 e 3,09 log UFC/g de maionese, a aceitação sensorial não variou de uma amostra para outra, sendo as médias de aceitação de $7,28 \pm 1,63$ para maionese controle e $7,19 \pm 1,45$ para a maionese com OEO, mostrando que o OEO pode ser utilizado nesta matriz.

Palavras-chave: antimicrobiano natural, antioxidante natural, estabilidade oxidativa, análise sensorial, *Salmonella* Enteritidis.

GOMES, I. A. **Using oregano essential oil as antimicrobial and natural antioxidant in low acidity mayonnaise.** 2016. 73 páginas. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Alimentos e Nutrição). Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, RJ, 2016.

ABSTRACT

Foodborne illness are caused by eating contaminated food or drink and are a public health problem worldwide. *Salmonella* spp. it is a microorganism most often involved in cases of outbreaks and DTA and more susceptible foods are those that contain raw or undercooked eggs, such as low acidity mayonnaise also known as homemade mayonnaise. Because of its composition low-acidity mayonnaise can provide not only bacterial contamination concerning, but this product can also be susceptible to chemical and physic-chemical changes, since the soy oil (which represents approximately 79% of mayonnaise composition) makes it vulnerable to lipid oxidation, requiring the use of additives which have antioxidant and / or antimicrobial activity. Today there is a strong tendency, called "green" consumerism where society wants less synthetic food additives and more products with less impact on human health and environment. Therefore, interest in the use of natural antioxidants and antimicrobial agents has increased. In this context, this study aimed to demonstrate the use of essential oil of oregano as an antioxidant and antimicrobial agent in low acidity mayonnaise kept under refrigeration. In this way, the mayonnaise was prepared with essential oil of oregano (EOO) and evaluated survival of *Salmonella enteritidis* in the mayonnaise added EOO as well as their sensory acceptance. It was also realized the comparing of EOO with BHT concerning its stability and rancidity oxidation process. The results showed that the presence of EOO mayonnaise delay the onset of oxidative rancidity in 7 days , which is slower process compared to BHT , and also no SE multiplication in the sample without EOO was 3 colony counts 20 ; 3.10; 3.18 and 3.09 log CFU/g of mayonnaise, sensory acceptance is varied from one sample to another , and the means of acceptance 7.28 ± 1.63 for the control mayonnaise and 7.19 ± 1.45 for mayonnaise with EOO showing the EOO can be used in this matrix.

Keywords: natural antimicrobial, natural antioxidant, oxidative stability, sensory analysis, *Salmonella* Enteritidis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Foto de maionese ampliada no microscópio	20
Figura 2. Composição em ácidos graxos do óleo de soja.....	22
Figura 3. Esquema geral do mecanismo de oxidação lipídica	24
Figura 4. Patogênese da contaminação de ovos por <i>Salmonella</i>	29
Figura 5. Ultra Turrax e Sacos Estéreis	38
Figura 6. Meio Ágar XLD	39
Figura 7. Amostras de maionese Controle, BHT e OEO após centrifugação	39
Figura 8. Análise de Índice de Peróxido	40
Figura 9. Análise de Dienos Conjugados	42
Figura 10. Titulador automático	42
Figura 11. Pesagem da maionese para realização da análise de acidez	43
Figura 12. Equipamento para determinação da atividade de água	44
Figura 13. Curva de sobrevivência de <i>Salmonella</i> Enteritidis na maionese de baixa acidez com e sem adição de óleo essencial de orégano	45
Figura 14. Sobrevivência de <i>Salmonella</i> Enteritidis em Meio Ágar XLD. Placas T ₀ e T ₂ semeadas com maionese (sem e com OEO) armazenadas a 30°C	46
Figura 15. Sobrevivência de <i>Salmonella</i> Enteritidis em Meio Ágar XLD. Placas T ₄ e T ₂₄ semeadas com maionese (sem e com OEO) armazenadas a 30°C	46
Figuras 16– Sobrevivência de <i>Salmonella</i> Enteritidis em Meio Ágar XLD. Placas T ₀ e T ₂ semeadas com maionese (sem e com OEO) armazenadas a 8°C	47
Figura 17 – Sobrevivência de <i>Salmonella</i> Enteritidis em Meio Ágar XLD. Placa T ₄ semeada com maionese (com OEO e sem) armazenada a 8°C	47
Figura 18 - Sobrevivência de <i>Salmonella</i> Enteritidis em Meio Ágar XLD. Placas T ₂₄ semeadas com maionese (sem e com OEO) armazenadas a 8°C	48

Figura 19 – Formação de dienos conjugados durante a estocagem até 8 semanas	51
Figura 20 – Formação de trienos conjugados durante a estocagem da maionese	52
Figura 21. Variação dos valores de pH das amostras de maionese Controle, BHT e OEO submetidas a armazenamento durante 8 semanas a 10°C.....	54
Figura 22. Acidez das amostras de maionese Controle, BHT e OEO submetidas a armazenamento durante 8 semanas a 10°C	55
Figura 23 – Atividade de água das amostras de maionese Controle, BHT e OEO submetidas a armazenamento durante 8 semanas a 10°C	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Surtos de <i>Salmonella</i> Enteritidis	29
Tabela 2. Composição do Óleo Essencial de Orégano	34
Tabela 3. Fórmula base da maionese	36
Tabela 4. Índice de Peróxido	49
Tabela 5. Médias da aceitação global das amostras de maionese nos anos de 2013 e 2014	59

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Aw	Atividade de Água
BHA	Butil hidroxianisol
BHI	Caldo Infusão Cérebro e Coração
BHT	Butil hidroxitolueno
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
IP	Índice de Peróxido
MS	Ministério da Saúde
OEO	Óleo Essencial de Orégano
OMS	Organização Mundial de Saúde
pH	Potencial hidrogeniônico
PUFA	Ácidos Graxos Polinsaturados
SE	<i>Salmonella</i> Enteritidis
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
TBHQ	Terc Butil Hidroquinona
TSA	Ágar soja tripticaseína
UFC	Unidades formadoras de colônias
XLD	Xylose-Lysine-Desoxycholate agar

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT.....	11
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	13
LISTA DE TABELAS	14
LISTA DE SIGLAS	15
1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1 Maionese.....	19
2.2 Doenças Transmitidas por Alimentos	25
2.3 <i>Salmonella</i>	27
2.4 Óleos Essenciais	31
2.4.1 Propriedade antimicrobiana dos óleos essenciais.....	32
2.4.2 Propriedade antioxidante dos óleos essenciais.....	33
2.4.3 Óleo Essencial de Orégano (<i>Origanum vulgare L.</i>) (OEO)	34
3. OBJETIVOS	36
4. MATERIAL E MÉTODOS	36
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
6. CONCLUSÃO	59
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	59
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	61

1. INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos (DTA) constituem um dos problemas de saúde pública mais frequente do mundo. São doenças causadas por agentes etiológicos, principalmente microrganismos, os quais penetram no organismo humano através da ingestão de água e alimentos contaminados (WELKER *et al.*, 2010). A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que, anualmente, mais de um terço da população, incluindo países desenvolvidos, são acometidos por surtos de DTA (CARMO, DIMECH, ALVES, 2006). O perfil epidemiológico das DTA no Brasil ainda é pouco conhecido, entretanto, com os dados disponíveis já é possível apontar alguns agentes etiológicos mais comuns: *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella* spp., *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens* (BRASIL, 2010).

A salmonelose é considerada uma das doenças de origem alimentar relatadas mundialmente com mais frequência (FORSYTHE, 2013). A *Salmonella* Enteritidis (SE) é um dos sorovares mais comuns no mundo, transmitido principalmente por ovos consumidos crus ou mal cozidos (GOVARIS, *et al.*, 2010; GOLE, *et al.*, 2014). A gema, apresenta características de um meio de cultura enriquecido devido às suas propriedades nutritivas, logo, microrganismos podem ser multiplicar rapidamente, caso temperatura e pH não sejam controlados. Entre os produtos de ovo, a maionese caseira, preparada com ovos crus foi identificada como um importante alimento envolvido em surtos de salmonela (ELIAS *et al.*, 2015).

A maionese, assim como todos os alimentos ricos em gordura, é susceptível a deterioração devido à auto-oxidação das gorduras insaturadas e poli-insaturados no óleo e a sua estabilidade depende do tipo de óleo usado (DEPREE, SAVAGE, 2001).

Devido ao seu pH baixo e alto teor de gordura, a maionese é relativamente resistente à deterioração microbiana, entretanto, barreiras adicionais devem ser utilizadas para garantir a qualidade microbiológica da maionese, assim como a sua estabilidade (DEPREE, SAVAGE, 2001).

O mercado de maionese está preocupado em utilizar outros ingredientes e, por isso, versões “mais saudáveis” têm sido desenvolvidas. O desenvolvimento de versões mais saudáveis de maionese acontece devido ao aumento do estado de alerta do consumidor com relação ao consumo excessivo de ingredientes “não

saudáveis”, como os aditivos (GARCIA *et al.*, 2009). Assim, torna-se relevante investigar a possibilidade de substituir os antioxidantes sintéticos e antimicrobianos utilizados pela indústria pelo óleo essencial de orégano na formulação da maionese.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Maionese

A maionese foi inventada em 1756 pelo chefe de cozinha francês do Duque de Richelieu. Depois que o Duque derrotou os britânicos em Port Mahon, seu chefe produziu o banquete da vitória que incluía um molho feito à base de nata e ovos. Percebendo que não havia nata na cozinha, o chefe a substituiu por azeite de oliva, o chefe apelidou esse molho de “*Mahonnaise*” (LOPES, 2014).

Pouco tempo depois, o grande chefe francês, Marie-Antoine Careme (1784-1833), alterou a receita original substituindo o azeite de oliva por óleo vegetal. A receita se tornou famosa em toda a Europa, posteriormente nos Estados Unidos e 16 para o mundo. Em 1905, a maionese pronta era vendida em Nova York no armazém de Richard Hellmans onde teve grande sucesso (JAEGER, 2012).

Um dos molhos mais antigos, tradicionais e consumidos a nível mundial é a maionese, é um produto utilizado para realçar o sabor dos alimentos e incrementar as refeições. A legislação brasileira define maionese como sendo o produto cremoso em forma de emulsão estável, preparada a partir de óleo vegetal, água e ovos podendo ser adicionada de outros ingredientes desde que não descaracterize o produto (BRASIL, 2005). A maionese é um tipo de emulsão semi-sólida de óleo-em-água contendo 70-80% de “matéria gorda”. Maioneses comerciais normalmente contêm azeite ou óleo de soja, vinagre, gema de ovo, agentes espessantes, sal e especiarias, geralmente a mostarda (AMIN, MUSTAFA. KHALIL, 2014). Como ingredientes opcionais a maionese pode conter mostarda, sal, açúcar, ervas e outros temperos.

Fisicamente a maionese é formada por gotículas de óleo dispersas em uma fase aquosa contínua e o principal agente emulsificador é a gema de ovo, devido as suas características tanto para a formação da emulsão quanto para a obtenção da textura correta (DEPREE, SAVAGE, 2001). A rigidez da emulsão depende parcialmente do tamanho das gotículas de óleo e da proximidade com que elas estão agrupadas (LOPES, 2014). Na Figura 1 pode-se notar claramente a interação entre as fases.

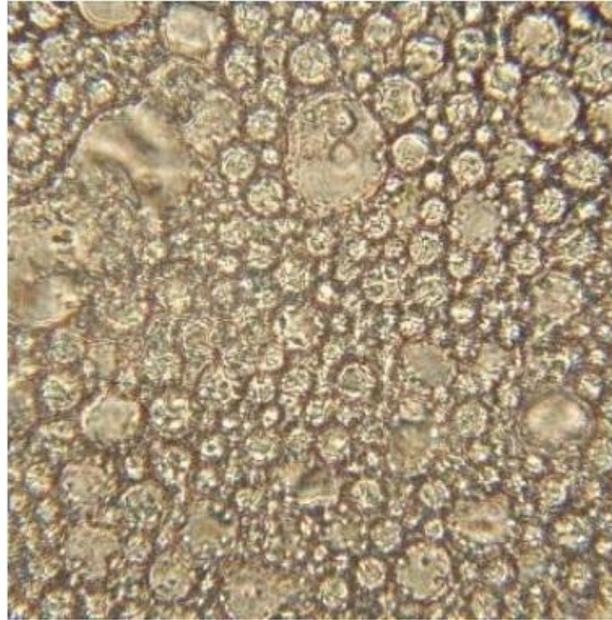


Figura 1. Foto de maionese ampliada no microscópio (JAEGER, 2012)

O pH da maionese varia de 3,6 a 4,0, com o ácido acético como principal ácido (ARAÚJO, 1995).

A emulsão é formada por misturar primeiro os ovos, vinagre e então lentamente misturar o óleo.

Cada ingrediente da formulação da maionese tem uma função específica e a quantidade de cada um deve ser cuidadosamente determinada e controlada para se atingir as características desejadas (LOPES, 2014).

Dentre os óleos vegetais, o óleo de soja é o mais utilizado para a produção de maionese. As substâncias presentes no óleo de soja que podem afetar a emulsão no processo de fabricação da maionese são os fosfolipídios e a estearina, que são substâncias que cristalizam à temperatura perto de zero grau (entre 4 e 5°C). Como a maionese é uma emulsão óleo e água, as gotículas de óleo estão dispersas em uma fase aquosa. Quanto mais óleo estiver disperso na emulsão, mais rígida (maior consistência) a maionese será. Mas se sobrecarregar o sistema com óleo, ou seja, acima de 80% as gotículas formadas estarão muito próximas e qualquer choque mecânico facilmente provocará a degradação da emulsão e o produto se apresentará mais fluído do que cremoso (JAEGER, 2012).

A legislação brasileira não estabelece teor mínimo de óleo para a fabricação da maionese, a legislação americana exige que a maionese tenha pelo menos 65% de óleo vegetal em massa (RODRIGUES, 2011). Abaixo de 60% de óleo, a emulsão

deverá ser estabilizada com adição de amido ou aumento da quantidade de gema de ovos (HARRISSON, CUNNINGHAM, 1985). Diretrizes emitidas em setembro de 1991 pela Federação da Europa das Indústrias de Condimento Molho dizem que os níveis de óleo e gema de ovo líquida na maionese devem ser respectivamente de pelo menos 70% e 5%. Como isso não está na legislação à maioria das marcas disponíveis não segue estes parâmetros (JAEGER, 2012).

Gema de ovo é muito importante na constituição da maionese, ela ajuda na emulsificação, estabilização da emulsão, no sabor e na coloração da maionese. A qualidade das gemas afeta diretamente na viscosidade da maionese e na estabilidade final da emulsão (DICKINSON, 2001). A gema do ovo contém lecitina que é o principal agente emulsificante presente na maionese. A lecitina é um emulsificante iônico, os emulsificantes iônicos, hidrossolúveis, estabilizam emulsões do tipo O/A. Na interface, os grupos alquila interagem com as gotículas de óleo, enquanto os grupos finais carregados se projetam para a fase aquosa. O envolvimento de grupos contrários forma uma camada dupla, que previne a agregação das gotículas de óleo (ARAÚJO, 1995). Os ovos congelados fornecem uma maionese mais uniforme, com melhor consistência, mas é necessária uma maior quantidade de ovos para se obter uma boa viscosidade no produto final. Os ovos desidratados têm uma boa capacidade de emulsificação, e tem a vantagem de um tempo de vida maior, menor risco de contaminação e, por isso é mais utilizado pela maior parte das indústrias na produção de maionese (JAEGER, 2012).

O sal melhora o sabor da maionese e atua como conservante. Pelo fato de o sal ficar dissolvido apenas na fase aquosa, que é muito menor que a fase oleosa, ele acaba se encontrando em uma alta concentração, assim acaba dificultando o crescimento microbiano (ARAÚJO, 1995). O sal também influencia a taxa de oxidação do óleo na emulsão (DEPREE, SAVAGE, 2001).

Vinagre é um dos constituintes, juntamente com a água, da fase aquosa continua que forma a emulsão. Ele é o ácido mais comum utilizado na preservação da maionese, possui valor antisséptico e também ajuda a prevenir contra a deterioração e a rancificação da maionese, e sua acidez aumenta a carga elétrica de certas moléculas surfactantes (JAEGER, 2012). O vinagre é normalmente adicionado juntamente com outros ácidos, como o ácido láctico, para manter o pH da maionese

baixo (entre 3,3 e 3,8) e para não carregar o sabor de acidez causado pelo vinagre (JAY, 2000).

A maionese de baixa acidez, ou maionese caseira, apesar de ter um sabor melhor, pode ser uma vilã já que o ovo utilizado pode estar contaminado e o pH nem sempre acaba ficando baixo, logo, a emulsão acaba não sendo tão boa para garantir baixa atividade de água (JAEGER, 2012). O principal risco de ter um pH baixo é por favorecer a multiplicação de *Salmonella*, pois a gema, representa um meio de cultura, facilitando a sobrevivência deste patógeno.

O óleo pode ser responsável por 65-85% ou mais do volume total, dependendo da formulação (MATTIA *et al.*, 2015). As gorduras contidas na maionese são quase totalmente triglicerídios e sendo esses as fontes potenciais mais significativas de oxidação nesses alimentos (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

O óleo de soja, utilizado na formulação da maionese, possui importância econômica e nutricional, visto que possui em sua composição ácidos graxos insaturados. O óleo de soja apresenta quantidades expressivas de ácidos graxos essenciais linoléico e linolênico (Figura 2) (NUNES, 2008). A diferença de estabilidade entre os diversos tipos de óleos vegetais é decorrente principalmente da presença de ácidos graxos poli-insaturados e da quantidade de γ - e δ -tocoferóis, além da adição de antioxidantes sintéticos (MASUCHI *et al.*, 2008).

Ácidos Graxos		Composição Óleo de soja (%)
Láurico	C 12:0	0 – 0,1
Mirístico	C 14:0	0 – 0,2
Palmítico	C 16:0	9,7 – 13,3
Palmitoléico	C 16:1	0 – 0,2
Esteárico	C 18:0	3 – 5,4
Oléico	C 18:1	17,7 – 28,5
Linoléico	C 18:2	49,8 – 57,1
Linolênico	C 18:3	5,5 – 9,5
Araquídico	C20:0	0,1 – 0,6
Gadoléico	C20:1	0 – 0,3
Eicosadienóico	C20:2	0 – 0,1
Behênico	C22:0	0,3 – 0,7
Erúcido	C22:1	0 – 0,3
Lignocérico	C24:0	0 – 0,4
Saturados		13,1 – 20,3
Insaturados		73 – 96

Figura 2 – Composição em ácidos graxos do óleo de soja (NUNES, 2008).

O óleo de soja, devido ao seu alto teor de ácido linoléico, é um dos óleos vegetais mais susceptíveis à oxidação e, portanto, a presença de antioxidantes é um fator determinante para garantir sua estabilidade oxidativa (MASUCHI *et al.*, 2008). A oxidação lipídica é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis tornando os alimentos impróprios para consumo, além de também provocar outras alterações que irão afetar não só a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos, através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (RAMALHO, JORGE, 2006).

A autooxidação é o principal mecanismo de oxidação dos óleos e gorduras. Existe uma seqüência de reações inter-relacionadas para explicar o processo de autooxidação dos lipídios demonstrada na Figura 3 (BOROSKI *et al.*, 2012). A autooxidação dos lipídios está associada à reação do oxigênio com ácidos graxos insaturados e ocorre em três etapas: iniciação, propagação e término. Na iniciação ocorre a formação dos radicais livres do ácido graxo devido à retirada de um hidrogênio do carbono alílico na molécula do ácido graxo, em condições favorecidas por luz e calor. Na propagação, os radicais livres que são prontamente susceptíveis ao ataque do oxigênio atmosférico, são convertidos em outros radicais, aparecendo os produtos primários de oxidação (peróxidos e hidroperóxidos) cuja estrutura depende da natureza dos ácidos graxos presentes. Os radicais livres formados atuam como propagadores da reação, resultando em um processo autocatalítico. No término, dois radicais combinam-se, com a formação de produtos estáveis (produtos secundários de oxidação) obtidos por cisão e rearranjo dos peróxidos (epóxidos, compostos voláteis e não voláteis) (RAMALHO, JORGE, 2006).

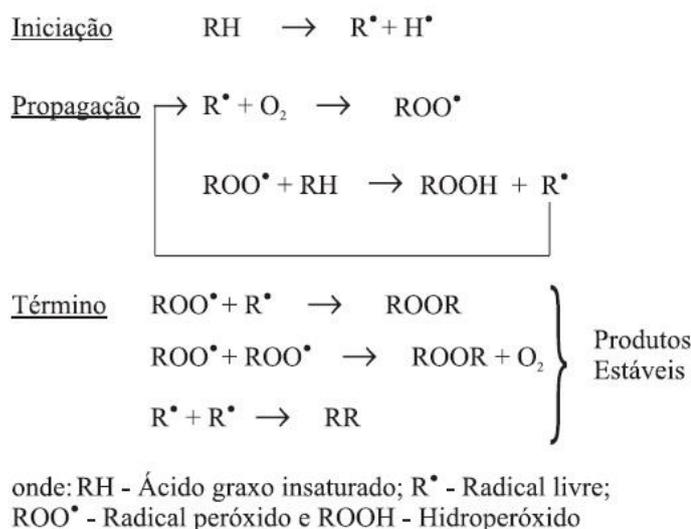


Figura 3. Esquema geral do mecanismo da oxidação lipídica

Os antioxidantes são adicionados para preservar o sabor e impedir a oxidação das gorduras impedindo a rancificação. Alguns antioxidantes também possuem propriedades antimicrobianas contra uma grande gama de microrganismos (BRENNAN, 2006).

Os antioxidantes em alimentos podem ser definidos como qualquer substância capaz de adiar, retardar ou impedir o desenvolvimento de sabor rançoso ou outras deteriorações aromáticas em alimentos, decorrendo da oxidação. Os antioxidantes numa concentração consideravelmente menor que a do substrato oxidável, retardam o ranço oxidativo, diminuindo a velocidade da reação ou prolongando o seu período de indução (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

Em produtos a base de óleos e gorduras, as antioxidantes mais utilizados são o Butil hidroxitolueno, BHT, e Butil hidroxianisol, BHA, no Brasil, uso de antioxidantes é regulamentado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). O limite máximo do uso de BHA em óleos e gorduras é de 0,02 g/100g ou g/100ml e o limite de BHT é de 0,01 g/100g ou g/100ml (BRASIL, 2007).

Das centenas de compostos que têm sido propostos para inibir a deterioração oxidativa das substâncias oxidáveis, somente alguns podem ser usados em produtos para consumo humano. Na seleção de antioxidantes, são desejáveis as seguintes propriedades: eficácia em baixas concentrações (0,001 a 0,01%); ausência de efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor e em outras características do alimento; compatibilidade com o alimento e fácil aplicação;

estabilidade nas condições de processo e armazenamento e o composto e seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos, mesmo em doses muito maiores das que normalmente seriam ingeridas no alimento (BAILEY, 1996).

Além disso, na escolha de um antioxidante devem-se considerar também outros fatores, incluindo legislação, custo e preferência do consumidor por antioxidantes naturais (RAMALHO, JORGE, 2006).

Os antioxidantes podem ser ativos em diferentes fases da progressão da oxidação nos sistemas alimentares. No entanto, as condições para que os diferentes antioxidantes atuem para a proteção de um produto alimentar não são bem compreendidas. Devido a requisitos de mercado, o uso de antioxidantes sintéticos está sendo substituído mais e mais por antioxidantes naturais a partir de fontes vegetais. (KULISIC, RADONIC, MILOS, 2005).

Como a maionese é um alimento com alto teor lipídico e um produto comercial que deve durar em torno de seis meses deve ser protegida por um sistema antioxidante voltado à estabilidade dos ácidos graxos insaturados (ARAÚJO, 1995).

2.2 Doenças Transmitidas por Alimentos

Doenças transmitidas por alimentos é um termo genérico, aplicado a uma síndrome geralmente constituída de anorexia, náuseas, vômitos e/ou diarreia, acompanhada ou não de febre, atribuída à ingestão de alimentos ou água contaminados. Tais doenças podem dar origem a surtos, que são de notificação compulsória e são caracterizados pela ocorrência de dois ou mais casos de doenças associados a um único alimento. A presença de microrganismos patogênicos em alimentos pode causar um surto. As DTAs podem ser causadas por infecção alimentar - quando o próprio microrganismo ataca as células do organismo humano - ou intoxicação alimentar - quando o microrganismo produz uma toxina que agirá no organismo humano.

Existem aproximadamente 250 tipos de doenças alimentares (OLIVEIRA *et al.*, 2010). A ocorrência de DTA vem aumentando de modo significativo em nível mundial. Vários são os fatores que contribuem para a emergência dessas doenças, entre os quais se destacam: a maior exposição das populações a alimentos destinados ao pronto consumo coletivo – *fast-foods* –, o consumo de alimentos em

vias públicas, a utilização de novas modalidades de produção, o aumento no uso de aditivos e a mudanças de hábitos alimentares, sem deixar de considerar as mudanças ambientais, a globalização e as facilidades atuais de deslocamento da população, inclusive no nível internacional (BRASIL, 2010). As camadas menos favorecidas da população geralmente são as mais afetadas pela contaminação alimentar, devido aos hábitos culturais da alimentação e à necessidade de optar por produtos com menor preço, geralmente de pior qualidade e mais contaminados (WELKER *et al.*, 2010).

Essas doenças além de caracterizarem um grave problema de saúde pública, também afetam a economia de um país, pois geram vários custos, incluindo: perda da renda dos indivíduos afetados, custos com cuidados médicos, perda de produtividade devido ao absenteísmo, custos das investigações de surtos, perda de renda em razão de fechamento de negócios, perda de vendas quando os consumidores evitam algum produto em particular (FORSYTHE, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Segundo dados do Ministério da Saúde (MS) e Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), ocorreram 8.919 mil casos de surtos no Brasil entre os anos 2000 até 2012, com uma média de 740 surtos por ano, sendo que a maioria tem origem microbiológica, atribuindo-se este fato a manipulação e condições higiênicas inadequadas (SANTOS, JUNIOR, BORTOLOZO, 2011). Este número pode ser estimado, porque em muitas circunstâncias somente uma pequena quantidade de pessoas procura ajuda médica, e nem todas são investigadas (FORSYTHE, 2013). No Brasil, os surtos notificados, geralmente, se restringem àqueles que envolvem um maior número de pessoas ou quando a duração dos sintomas é mais prolongada e as regiões do país que mais notificam surtos são Sul e Sudeste, com destaque para os estados de Rio Grande do Sul, São Paulo, Paraná e Santa Catarina (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Estima-se que a cada ano aproximadamente 30% da população de países industrializados sofra de doenças relacionadas ao consumo inadequado de alimentos (CANSIAN *et al.*, 2010).

Entre os anos 1999 a 2008, as bactérias foram identificadas como o agente etiológico responsável de 84% dos surtos, enquanto que os vírus foram implicados em 14% do total de casos (BRASIL, 2008).

É difícil determinar o perfil epidemiológico das doenças transmitidas por alimentos no Brasil ainda, pois somente alguns estados e/ou municípios dispõem de estatísticas e dados sobre os agentes etiológicos mais comuns, alimentos mais frequentemente implicados, população de maior risco e fatores contribuintes (ELIAS, 2014). Visto que os consumidores não estão conscientes de que possam existir problemas potenciais com os alimentos uma quantidade significativa de alimentos contaminados é ingerida, levando-os, a ficar doentes. Desse modo é difícil qual alimento foi a causa original da toxinfecção alimentar, uma vez que o consumidor não lembrará de algo diferente em suas últimas refeições. Isso ocorre porque a dose infectante de patógenos alimentares geralmente é menor que a quantidade de microrganismos necessária para degradar os alimentos. (FORSYTHE, 2013).

A identificação de um único ingrediente alimentar contaminado pode levar à retirada de literalmente toneladas de produtos alimentícios, com consideráveis perdas econômicas na produção e embargos nos negócios, bem como danos à indústria turística. Sendo assim, os países têm cada vez mais ampliado sua percepção da necessidade e da importância de um sistema de vigilância e da adoção de medidas para garantir a segurança dos alimentos, entre elas a identificação do alimento ou dos alimentos envolvidos em surtos de DTA (OLIVERIA *et al.*, 2010). O número crescente e a gravidade de doenças transmitidas por alimentos em todo o mundo têm aumentado de maneira considerável o interesse público em relação à segurança dos mesmos. A atenção do público levou ao chamado “pânico dos alimentos”, portanto, a indústria precisa produzir alimentos que sejam seguros ao serem consumidos e que tenham a qualidade esperada pelo consumidor (HENAIO *et al.*, 2010; TAUXE *et al.*, 2010).

2.3 *Salmonella*

A *Salmonella* é um gênero da família *Enterobacteriaceae*. É uma bactéria Gram-negativa, anaeróbia facultativa, não forma endósporos e tem forma de bastonetes curtos. A temperatura ótima de multiplicação é de cerca de 38°C e a mínima fica em torno de 5°C e o pH ótimo para multiplicação da *Salmonella* é de 7,0 (valores superiores a 9,0 e inferiores a 4,0 são bactericidas). A atividade de água também é determinante para este patógeno, sendo que o valor mínimo para a sua

multiplicação é de 0,94. Como não forma endósporos, é relativamente termosensível, podendo ser destruída a 60°C, em 15 a 20 minutos (FORSYTHE, 2013; FRANCO, LANDGRAF, 2008).

De 2000 a 2013, *Salmonella* foi o agente infeccioso mais comumente associado a surtos de intoxicação alimentar no Brasil, com um total de 1.560 episódios, representando 38,3% de todos os agentes identificados durante o período referido (ALMEIDA *et al.*, 2015).

Salmonella enterica, subespécie *enterica*, sorovar Enteritidis (*Salmonella* Enteritidis), uma bactéria móvel, não produtora de esporos, com morfologia de bacilo Gram negativo pertencente à família *Enterobacteriaceae* é o enteropatógeno envolvido em grande parte dos surtos por salmonelose que tem como sintomas diarreia, febre, dores abdominais e vômitos (FRANCO; LANDGRAF, 2002). Além de contaminar cascas de ovos, a *S. Enteritidis* pode também ser isolada de gemas devido à infecção transovariana. O organismo proveniente do ânus percorre o corpo até colonizar os ovários (Figura 4). Logo após, a *S. Enteritidis* infecta o ovo, antes da formação da casca protetora (FORSYTHE, 2013; GANTOIS *et al.*, 2009). Por este motivo, os ovos têm sido identificados como principal veículo de transmissão de *S. Enteritidis*, responsável por infecções em humanos (ELIAS, 2014).

A *S. Enteritidis* não tem distribuição geográfica definida, sendo isolada com frequência semelhante em diferentes países (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

No Rio Grande do Sul, *Salmonella* spp. foi responsável por 35,7% dos 323 surtos alimentares investigados no período de 1997 a 1999, sendo a “maionese caseira” o alimento mais envolvido, tanto na forma de saladas (32%), como na forma de coadjuvante de outros alimentos de preparação caseira (2,2%) (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Segundo Oliveira, Brandelli e Tondo, (2006) no período de 2001 a 2002, dentre os alimentos envolvidos em surtos ocorridos no RS, 30% envolveram preparações a base de ovos.

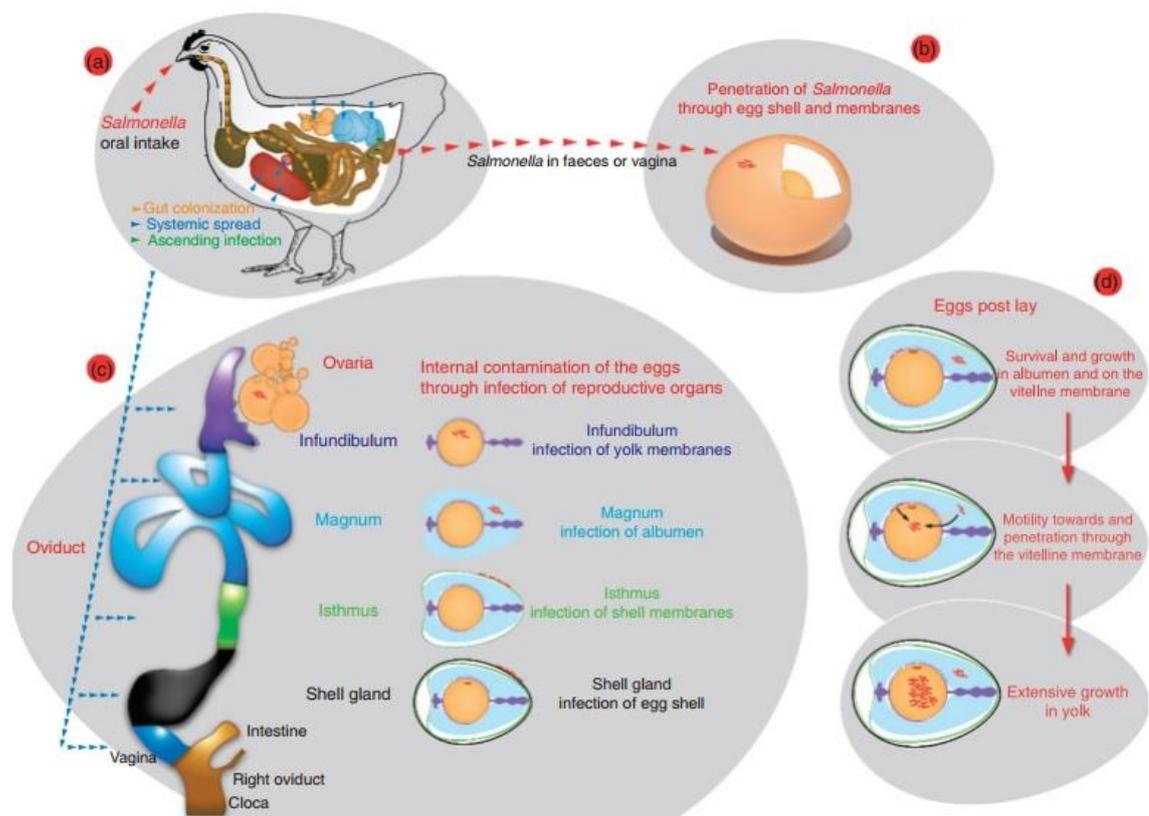


Figura 4: Patogênese da contaminação de ovos por *Salmonella*. Gantois *et al.*, 2009. (a) *Salmonella* é ingerida pela galinha e entra no trato digestório. (b) Contaminação dos ovos pela penetração de *Salmonella* através da casca e das membranas da casca após a contaminação do exterior da casca. (c) Contaminação direta da gema, do albúmen, das membranas da casca e da casca proveniente da infecção do oviduto. (d) Após a oviposição, a *Salmonella* presente no albúmen é capaz de sobreviver e se multiplicar. Também possui a capacidade de migrar e penetrar na gema, alcançando esse ambiente rico, pode se multiplicar.

No Brasil ocorre grande diferença nos níveis de prevalência deste patógeno variando desde a ausência até a presença em 33% dos ovos, entretanto, ainda não foi encontrado um estudo brasileiro que tenha avaliado a prevalência de *Salmonella* em ovos (ELIAS, 2014).

Na França, em 2005, *Salmonella* foi a principal causa de hospitalização e de morte por gastroenterite bacteriana confirmada em laboratório (OLIVEIRA *et al.*, 2010).

Em um período de janeiro de 2006 a dezembro de 2008 foram notificados 295 surtos de DTA em Santa Catarina, destes, 127 (43%) foram causados por *Salmonella* spp. e observou-se que a maionese caseira, produzida com ovo cru, foi a causadora em 59% dos surtos ocorridos (LUCA; KOERICH, 2009; ELIAS, 2014). Em

2012 (Tabela 1) foram notificados 316 surtos de DTA causados por SE, em São Paulo, destes, 223 (70%), foram causados por maionese caseira, e a maioria desses surtos ocorreu em residências, restaurantes e padarias (CVE, 2014).

Tabela 1- Surtos de *Salmonella* Enteritidis

Número de casos	Local do Surto	Município	Alimento Envolvido
31	Buffet	Ribeirão Pires	Pizza de frango
20	Restaurante	Barra Bonita	Maionese
12	Evento	Campinas	Maionese
2	Lanchonete	Campinas	Maionese
95	Evento	Atibaia	Quindim
155	Restaurante	Batatais	Maionese
66	Restaurante	São José do Rio Pardo	Maionese
19	Restaurante	Votuporanga	Maionese
55	Lanchonete	Aparecida	Maionese caseira
62	Unidade de Saúde	Lorena	Panqueca de frango
10	Lanchonete em casa	Potim	Maionese caseira

Fonte: CVE, 2014

A taxa de incidência é alta em crianças de 5 a 9 anos de idade (2,44 casos/100 mil hab.) e no grupo de 10 a 19 anos (2,15 casos/100 mil hab.) (CVE, 2014).

Em países como Estados Unidos, a *Salmonella* Enteritidis causa a cada ano 1.200.000 surtos e é a principal causa de hospitalizações e mortes originadas por doenças alimentares, e no geral, a incidência de salmonelose não tem diminuído nos últimos dez anos (JACKSON *et al.*, 2013).

As salmoneloses caracterizam-se por sintomas que incluem diarreia, febres, dores abdominais e vômitos. Os sintomas aparecem, em média 12 a 36 horas após o contato com o microrganismo, durando entre um e quatro dias. A gravidade da doença depende do sorotipo de *Salmonella* envolvido, assim como das características do alimento envolvido. Assim, por exemplo, em alimentos com elevado teor de lipídios, como a maionese, a *Salmonella* fica “protegida” dentro dos glóbulos de gordura, não sendo afetada pelas enzimas digestivas ou pela acidez gástrica (FRANCO, LANDGRAF, 2008).

2.4 Óleos Essenciais

Os óleos essenciais são produtos dos metabolismos secundários das plantas definidos como misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Eles constituem o que é chamado a "essência" das plantas e geralmente têm fragrâncias agradavelmente perfumadas (AMORATI, FOTI, VALGIMIGLI, 2013). Formados por substâncias, compreendendo grupos químicos como hidrocarbonetos terpênicos, álcoois, ésteres, aldeídos, cetonas e óxidos em diferentes concentrações São definidos como um produto obtido por destilação em água ou vapor ou por expressão de pericarpo de produtos cítricos (RESENDE, 2013).

Os óleos essenciais são produzidos e armazenados pelas plantas, em estruturas especializadas, como os idioblastos, cavidades, canais e tricomas glandulares. As plantas podem produzir óleos essenciais em várias regiões em quantidade e composições diferentes. Entre as partes das plantas nas quais se pode encontrar os óleos essenciais citam-se, pétalas, cascas, rizomas, raízes, folhas, galhos, pequenos frutos, cascas e lenho (RESENDE, 2013).

Desde a Idade Média, os óleos essenciais têm sido amplamente utilizados devido a sua atividade bactericida, viricida, fungicida, insecticidas, em aplicações medicinais e cosméticos, e especialmente hoje em dia na indústria farmacêutica, agrícolas e alimentares (BAKKALI, AVERBECK, AVERBECK, 2008). Os óleos essenciais são misturas complexas que com compostos individuais. Cada um desses compostos contribui para os efeitos benéficos ou negativos desses óleos. Portanto, o conhecimento íntimo da composição do óleo essencial permite uma melhor aplicação (LAHLOU, 2004).

O grande número de trabalhos publicados apresentando as diversas atividades biológicas dos óleos essenciais intensifica a importância de se verificar também se esses compostos apresentam algum risco para o organismo humano (RESENDE, 2013). Alguns testes de citotoxicidade *in vitro* estão sendo realizados e estes ensaios são essenciais para averiguar a toxicidade dessas substâncias nos seres humanos (ROGERO *et al.*, 2003).

Trabalhos recentes mostram que, em células eucarióticas, os óleos essenciais podem atuar como pró-oxidantes que afetam as membranas celulares

internas e organelas tais como as mitocôndrias. Dependendo do tipo e concentração, eles apresentam efeitos citotóxicos em células vivas, mas geralmente são não genotóxico. Estas constatações sugerem que, pelo menos em parte, os efeitos benéficos encontrados de óleos essenciais são pró-oxidante devido a efeitos sobre o nível celular (BAKKALI, AVERBECK, AVERBECK, 2008).

Nos estudos das propriedades toxicológicas e farmacológicas dos óleos essenciais, a lipossolubilidade confere dificuldades de dispersão em meios hidrofílicos (LAHLOU, 2004).

2.4.1 Propriedade antimicrobiana dos óleos essenciais

Os princípios ativos presentes no óleo essencial de orégano são responsáveis por apresentarem ação contra bactérias. Entretanto, o exato mecanismo antimicrobiano ainda não está totalmente esclarecido (SANTURIO *et al.*, 2007; ZHOU *et al.*, 2000).

O principal modo de ação proposto para a atividade é a desestabilização da membrana celular dos microrganismos. Os óleos essenciais são lipofílicos e, portanto, facilmente permeáveis através da parede celular e membranas celulares. As interações de OE e os seus componentes com polissacarídeos, ácidos graxos e os fosfolipídios das membranas bacterianas as tornam mais permeáveis, de modo que as perdas de íons e de conteúdos celulares levam à morte celular (COSTA *et al.*, 2011). Do mesmo modo, a interferência na atividade da bomba de prótons, a perda da integridade da membrana, vazamento do conteúdo celular podem resultar em perda de viabilidade celular. Outros importantes mecanismos de ação incluem a desnaturação das proteínas citoplasmáticas e inativação de enzimas celulares que conduzem à morte das células bacterianas (SAAD, MULLER, LOBSTEIN, 2013; STEFANAKIS, *et al.*, 2013). A membrana celular bacteriana contém proteínas enzimáticas para manter suas propriedades funcionais, entretanto, alguns óleos essenciais são responsáveis por inibir essas enzimas de alguns agentes patogênicos bacterianos (BAJPAI, BAEK, KANG, 2012). Porém, a atividade antibacteriana dos óleos essenciais, devido à sua complexa constituição, não pode ser explicada por um único mecanismo de ação, uma vez que todos os

componentes da célula bacteriana tornam-se possíveis alvos de atuação desses óleos (RESENDE, 2013).

Atualmente, as propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais têm sido consideradas uma ferramenta em várias aplicações, incluindo preservação dos alimentos. Esse aspecto possui uma relevância particular devido ao aumento da resistência de algumas bactérias aos agentes antimicrobianos utilizados na preservação de alimentos (CANSIAN *et al.*, 2010).

A comprovação da atividade antimicrobiana possibilita a utilização destes óleos essenciais como conservantes naturais, em substituição aos conservantes de origem sintética que, podem apresentar reações tóxicas ao usuário. Dessa forma, a seleção definitiva do agente conservante deve ter um compromisso entre eficácia antimicrobiana e compatibilidade com o produto acabado, além da segurança ao consumidor avaliada por testes toxicológicos (LAHLOU, 2004; LIMA *et al.*, 2006; CUSTÓDIO *et al.*, 2010; PINTO; KANEKO; PINTO, 2010).

De maneira geral, a atividade tóxica dos óleos essenciais sobre diversos microrganismos pode estar relacionada ao conjunto de substâncias em sua composição, e não somente a cada um dos compostos majoritários. Portanto, um dos fatores mais relevantes no estudo de sua aplicabilidade é sua composição química, a qual pode variar em uma mesma planta devido a fatores ligados à biologia (genética, nutrição e fase de desenvolvimento), além daqueles edafoclimáticos (local, condições climáticas e tipo de solo) (LIMA *et al.*, 2014).

2.4.2 Propriedade antioxidante do dos óleos essenciais

Muitos óleos essenciais e compostos isolados destes têm sido recentemente reconhecidos como poderosos antioxidantes naturais, os quais poderiam ser utilizados como substitutos potenciais aos antioxidantes sintéticos (CANSIAN *et al.*, 2010). Estes atributos são devidos à capacidade inerente de alguns dos seus componentes, particularmente fenóis, para parar ou retardar a oxidação (AMORATI, FOTI, VALGIMIGLI, 2013).

Já foi claramente demonstrado em numerosos modelos que os compostos fenólicos de plantas têm propriedades antioxidantes. O ácido rosmarínico, ácido

caféico, ácido cumárico, quercetina, e carvacrol são os compostos responsáveis pela atividade antioxidante de orégano (BOROSKI *et al.*, 2012).

Em geral, os compostos fenólicos, (por exemplo, α -tocoferol), atuam como antioxidantes por sua elevada reatividade com radicais peroxil. A característica polar dos compostos fenólicos permite uma maior atuação como antioxidantes na fase aquosa de emulsões (BOROSKI *et al.*, 2012).

Em comparação com antioxidantes de referência, os óleos essenciais ricos em timol e carvacrol mostram efeito inibitório contra o processo de auto-oxidação dos lipídios (KULISIC, RADONIC, MILOS, 2005). Como os óleos essenciais naturais são misturas de vários componentes, os diferentes tipos de terpenóides antioxidantes muitas vezes coexistem e agem juntos. O desempenho como antioxidante é, de fato, o resultado da complexa interação entre os componentes e o material a ser protegido. Em geral, dependendo da composição exata do OE e comportamento de sinergismo ou antagonismo é de se esperar (AMORATI, FOTI, VALGIMIGLI, 2013).

A busca por antioxidantes naturais começou em virtude do grande número de estudos sobre o potencial antioxidante de OE. Isto é particularmente relevante porque os antioxidantes sintéticos mais comuns BHA ou BHT são suspeitos de serem potencialmente prejudiciais para a saúde humana (AMORATI, FOTI, VALGIMIGLI, 2013).

2.4.3 Óleo Essencial de Orégano (*Origanum vulgare* L.) (OEO)

O óleo essencial extraído de orégano tem potencial antimicrobiano significativo, todavia, a maioria das publicações estabelece generalizações sobre estas atividades frente a bactérias Gram positivas, Gram negativas, fungos, incluindo limitado número de representantes de cada espécie, sendo costumeira a utilização de apenas um exemplar catalogado como os da coleção ATCC (SANTURIO *et al.*, 2007). No óleo essencial de orégano onze compostos foram identificados (97,9% do total de óleo) (Tabela 2) timol [5-metil-2-(1-metiletil)-fenol] e carvacrol [2-metil-5-(1-metiletil)-fenol ou isopropyl-0-cresol], como os principais compostos monoterpênicos, são compostos fenólicos que têm o grupamento hidroxila em comum diferindo apenas na posição no anel aromático, responsáveis

pelo seu largo espectro de atividade antimicrobiana, e os hidrocarbonetos γ -terpineno, p-cimeno e α -terpineno (3,6%) representam importantes constituintes do óleo essencial de orégano (KULISC, RADONIC, MILOS, 2005).

Tabela 2 – Composição (%) do Óleo Essencial de Orégano (*Origanum Vulgare L.*)

Nome	%
Timol	35,0
Carvacrol	32,0
γ -terpineno	10,5
p-cimeno	9,1
α -terpineno	3,6

KULISC, RADONIC, MILOS, 2005

O timol e o carvacrol (principalmente o carvacrol) possuem a capacidade de desintegrar a membrana externa das bactérias Gram-negativas, como a *Salmonella* Enteritidis, pois o elevado caráter hidrofóbico destes componentes sugere que ocorra a solubilização da membrana citoplasmática, que tem característica lipofílica, liberando os lipopolissacarídeos, que resulta em um aumento na fluidez da membrana e perda de íons de sódio e potássio o que leva a inibição da síntese de ATP e, finalmente, o fenômeno de morte celular (BOTRE *et al.*, 2010; TURGIS *et al.*, 2012; OLIVEIRA; SOARES; PICCOLI, 2013; STEFANAKIS *et al.*, 2013). Além disso, é possível que núcleos aromáticos, contendo um grupo polar, possam fazer ligações de hidrogênio com os sítios ativos de enzimas microbianas alvo, o que favoreceria a atividade antimicrobiana do OEO (CLEFF *et al.*, 2010). O p-cimeno não é um antibacteriano eficaz quando usado sozinho, porém, pode haver sinergia entre ele e o carvacrol, facilitando o transporte de carvacrol para dentro da célula bacteriana (BURT, 2004). A atividade antimicrobiana dos compostos fenólicos aumenta em pH ácido, o que torna o OEO adequado para ser utilizado em maionese de baixa acidez (BAJPAI *et al.*, 2011; SÁNCHEZ-MALDONADO; SCHIEBER; GÄNZLE, 2011).

Além da atividade antimicrobiana, o OEO também pode possuir atividade antioxidante, pois os compostos fenólicos presentes no OEO são capazes de doar elétrons aos radicais livres reativos, tornando-os mais estáveis ou não reativos, conferindo ao óleo atividade antioxidante. Dessa forma, OEO quando aplicado em maionese de baixa acidez como antimicrobiano pode também agregar ao produto a

estabilidade oxidativa devido à sua capacidade antioxidante, além de conferir aroma de orégano (SILVA, 2007).

3. Objetivos

3.1. Objetivo Geral

Avaliar o uso de óleo essencial de orégano como agente antioxidante e antimicrobiano em maionese de baixa acidez mantida sob refrigeração.

3.2. Objetivos Específicos

- Aplicar óleo essencial de orégano como antimicrobiano natural em maionese de baixa acidez de modo a reduzir o risco de sobrevivência de *Salmonella* Enteritidis.
- Aplicar óleo essencial de orégano em maionese de baixa acidez como agente antioxidante natural em substituição aos antioxidantes sintéticos, como o BHT
- Estudar a estabilidade oxidativa, físico-química e microbiana da maionese de baixa acidez com adição de óleo essencial de orégano.
- Avaliar a aceitabilidade sensorial da maionese de baixa acidez com adição de óleo essencial de orégano.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Cultura Microbiana

Salmonella enterica subespécie *enterica* sorovar Enteritidis (SE) ATCC 13076 (SEYDIM, SARIKUS, 2006; MARQUES *et al.* 2008, SILVA *et al.*, 2016) mantida em agar soja tripiticaseína (TSA) a 4°C, reativada em caldo infusão de cérebro e coração (BHI) a 30° por 18 horas.

4.2 Formulação da Maionese

Para formular a maionese foram utilizados ingredientes da formulação padrão a partir de ingredientes descritos por Silva (2010), Rodrigues (2011) e Amin *et al.* (2014) com algumas modificações.

Tabela 3 – Fórmula base da maionese

Ingredientes	Quantidade
Óleo de soja	1440 mL
Emulsificante	369 g
Solução de NaCl (10%) a 4°C	72 mL
Vinagre (ácido acético 4%)	216 mL
pH	4,22

A maionese foi preparada conforme descrito por Rodrigues (2011) com algumas modificações, como emulsificante foi utilizado gema de ovo. Em um Becker, foram acrescentados a gema de ovo, a solução de NaCl e o vinagre e homogeneizou-se por 60 segundos. Em seguida, adicionou-se o óleo de soja lentamente (fio) por aproximadamente 15 minutos. O processo foi repetido duas vezes para obtenção das amostras com 1% de EDTA e 0,4% de OEO. Nesse procedimento foi utilizado o Turrax (Ultra Turrax – Ika T25 Digital – Biovera), previamente lavado e higienizado.

Todos os recipientes, utensílios e equipamentos utilizados foram previamente limpos e higienizados.

Aproximadamente, 200 g de cada tipo de maionese foi acondicionada em oito sacos estéreis (Nasco WHIRL – PAK), que foram identificados, datados e estocados sob refrigeração a $\pm 10^{\circ}\text{C}$.

4.3 Óleo Essencial de Orégano (OEO)

O óleo será adicionado à maionese durante o processamento de acordo com o planejamento experimental. A concentração de óleo essencial de orégano foi definida através de dados da literatura (SILVA, 2007).

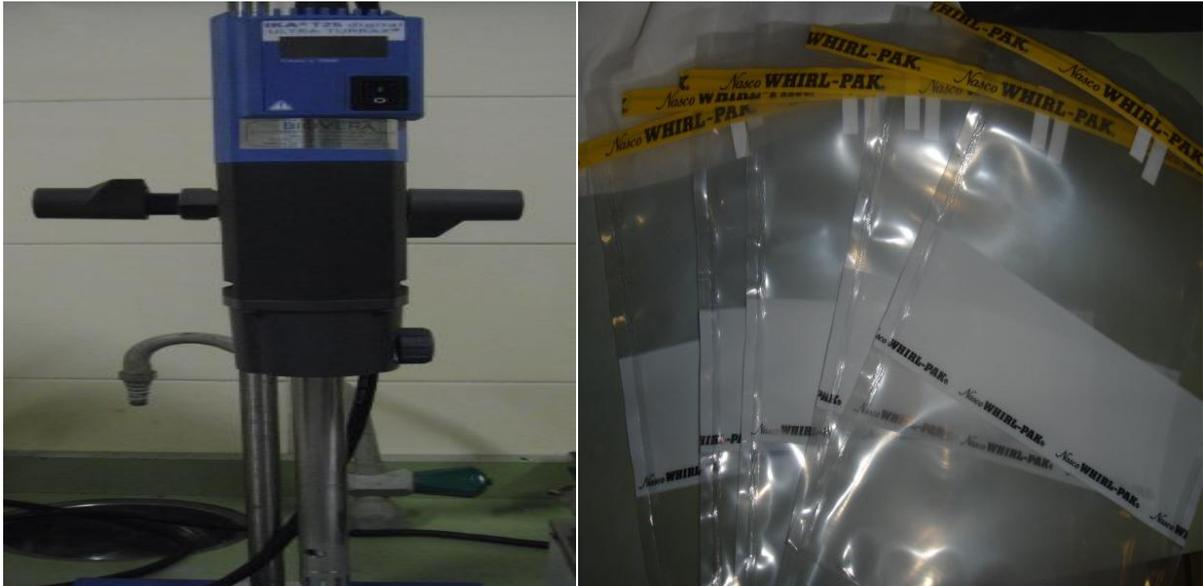


Figura 5. Ultra Turrax e Sacos estéreis

4.4 Preparo da cultura microbiana

A cultura foi reativada em caldo de cérebro e coração (BHI - Merck) a 30 °C por 18 horas. Foram realizadas quatro diluições decimais seriadas em água peptonada 0,9%.

4.5 Avaliação da sobrevivência de *Salmonella* Enteritidis em maionese adicionada de óleo essencial de orégano durante armazenamento em refrigeração e em temperatura ambiente

Foi realizada uma curva de sobrevivência em maionese de baixa acidez (MBA) com e sem o óleo essencial de orégano. Nesse teste, 25 mL de água peptonada contendo 10^4 UFC/mL da cultura de SE foram inoculados em 225 g de MBA contendo OEO. O procedimento foi repetido com MBA sem OEO, denominada amostra controle. Tanto a amostra controle quanto a amostra com OEO foram divididas em oito sacos estéreis em alíquotas de 25 g, cada, quatro das quais armazenadas a 8°C e outras quatro armazenadas a 30 °C. Nos tempos 0, 2, 4 e 24 horas, cada amostra armazenada nas duas diferentes temperaturas foi submetida a três diluições decimais seriadas, em tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada que foram semeadas em superfície de ágar XLD (Figura 6) (Xylose-Lysine-Desoxycholate Agar), em duplicata. A contagem das colônias nas placas de

XLD foi realizada após 24 horas de incubação das placas a 30 °C e os resultados foram convertidos em log UFC/g de maionese (SILVA, 2007; SILVA *et al.* 2010).

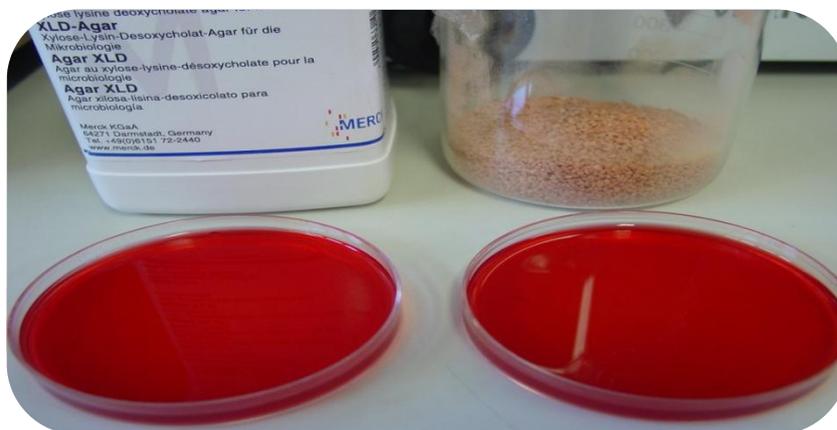


Figura 6 – Meio Ágar XLD

4.6 Método de Extração do Óleo da Maionese

No dia anterior as análises foram pesados ± 30 g de cada tipo de maionese em tubo tipo Falcom com capacidade de 50 mL. Os tubos foram tampados e de acordo com o procedimento de Lagunes-Galvez *et al.*,(2002), as amostras foram congeladas a $\pm 20^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas e descongeladas durante 2 horas a $\pm 4^{\circ}\text{C}$, para quebrar o emulsão. Depois as misturas foram centrifugadas em centrífuga de bancada (Nova Instruments – N1814) a 2000 rpm durante 15 minutos. A fase lipídica da emulsão separou-se do resíduo e foi armazenada em vidro fechado até ser analisada.

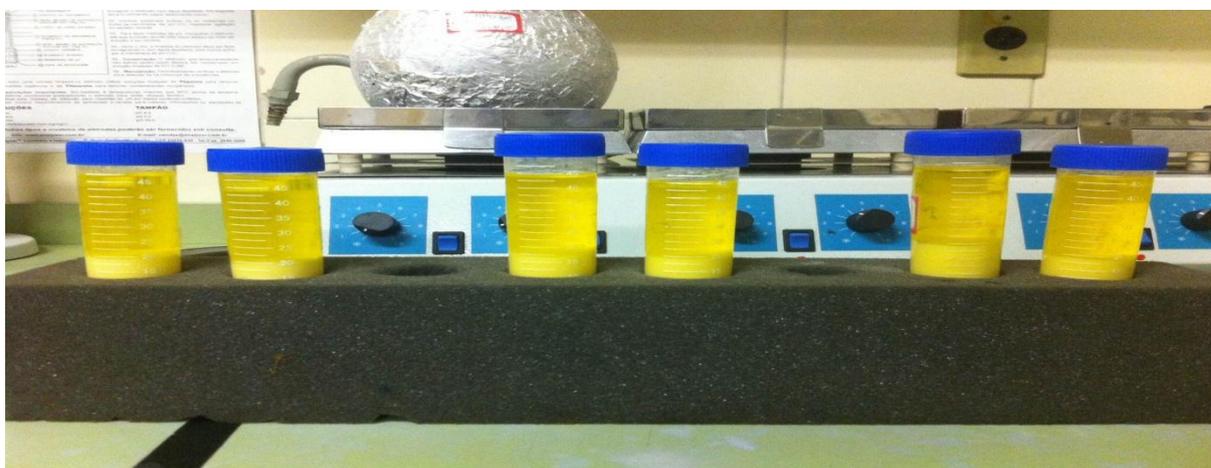


Figura 7. Amostras de maionese Controle, BHT e OEO após centrifugação

4.7 Determinação do Índice de Peróxidos (IP)

O índice de peróxido é um método clássico para determinação dos hidroperóxidos. Os peróxidos podem ser quantificados baseados em duas de suas propriedades: a de liberar iodo a partir de iodeto de potássio ou a de oxidar íons Fe^{2+} a Fe^{3+} (TELLES, 2006). O método mais utilizado é o iodométrico e baseia-se na medida do iodo (I_2) produzido por oxidação do iodeto de potássio (KI) pelos hidroperóxidos presentes no óleo. Os hidroperóxidos são produtos da oxidação primária e são medidos por meio de valores de índice de peróxido (IP), sendo um método muito útil para prever o aparecimento de ranço. O índice de peróxido, expresso em miliequivalentes de oxigênio ativo por quilograma de óleo (meq./kg), foi determinado através de um procedimento padrão por uma mistura de óleo e ácido acético:clorofórmio que foi deixado para reagir com uma solução de iodeto de potássio em ambiente escuro e, em seguida, o iodo livre foi titulado com uma solução de tiosulfato de sódio (BACCAN *et al.*, 2001). O valor de peróxidos presentes na amostra foi calculado utilizando a fórmula:

$$\text{Índice de Peróxido (meq/kg de amostra)} = \frac{V \times M \times f \times 1000}{P}$$

V = volume em mL de tiosulfato de sódio

M = molaridade da solução de tiosulfato de sódio

f = fator de correção da normalidade

P = peso da amostra em gramas

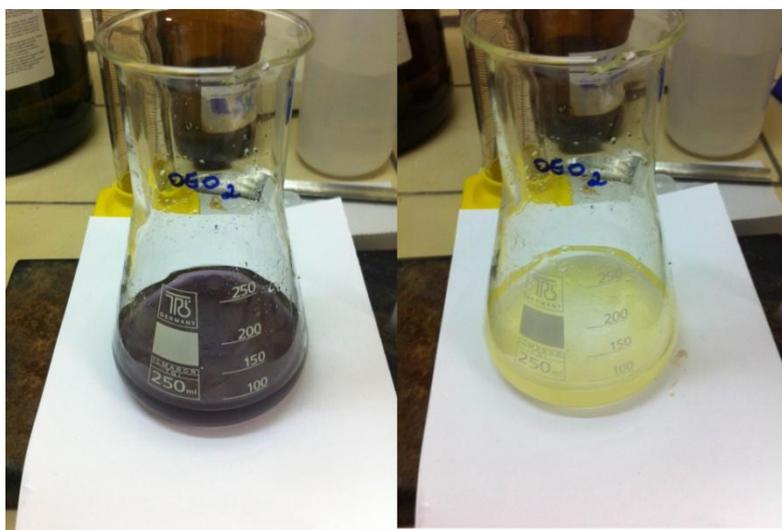


Figura 8. Índice de Peróxido

As principais fontes de erro do método são a absorção de I₂ pelas duplas ligações e a liberação de I₂ do KI pelo O₂ atmosférico. Além disso, os produtos medidos são muito instáveis e o método é bastante sensível à temperatura ambiente. Óleos que foram recém refinados devem ter o índice de peróxido próximo de zero; óleos que foram estocados por algum período, podem apresentar índice de peróxido menor ou igual a 2,5 meq/Kg. Entretanto, antes desses índices serem detectados, podem ocorrer problemas sensoriais de odor e sabor. O índice de peróxido é o método mais comum para determinar o estado oxidativo de um óleo, entretanto, seu uso se limita aos estágios iniciais da oxidação, já que quantifica produtos primários da reação, e quanto maior o índice de peróxido inicial do óleo, mais instável às reações de oxidação. A estabilidade oxidativa de óleo de soja bruto, degomado, refinado e reclarificado com a utilização do índice de peróxido e dienos conjugados no monitoramento da estabilidade proporcionaram informações mais precisas sobre o desenvolvimento do mecanismo autoxidativo, do que cada um isoladamente (TELLES, 2006).

4.8 Valor de Dienos e Trienos Conjugados

Quando os ácidos graxos linoléico e linolênico são oxidados eles formam hidroperóxidos, e as duplas ligações dos óleos se tornam conjugadas. O mecanismo envolve a subtração do hidrogênio alicíclico, seguida pela migração da dupla ligação, resultando em dienos conjugados, os quais demonstram uma absorção intensa a 232-234 nm. Da mesma forma, os trienos, demonstram uma absorção a 268 nm e 270 nm (TELLES, 2006).

O valor de dienos e trienos conjugados foi medido por espectrofotometria (espectrofotômetro - Shimadzu, modelo UV mini 1.240) a 234 nm e 268 nm utilizando hexano como branco (método AOCS Ti 1a-64). As amostras de óleo foram diluídas a 1:10 com hexano para posterior leitura (KLEINVELD *et al.*, 1992). Dienos e trienos conjugados foram avaliados 1 vez por semana durante as oito semanas de armazenamento. Os resultados foram expressos de acordo com a fórmula (LUGASI *et al.*, 2007):

$$\text{Dienos e Trienos conjugados} = \frac{BxV}{w}$$

B = Absorvância a 234 e 268 nm

V = volume de hexano utilizado na diluição

W = peso em gramas da amostra

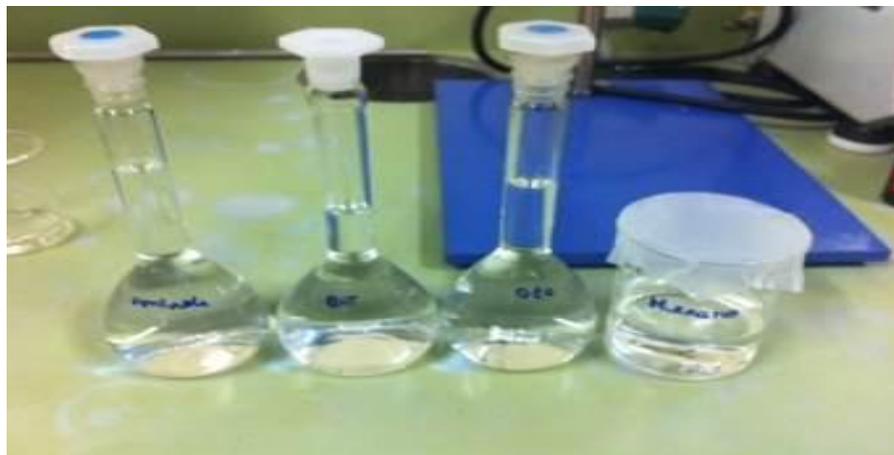


Figura 9. Análise de dienos conjugados

4.9 pH

O potencial hidrogeniônico foi medido a temperatura de 25°C utilizando o pHmetro Metrohm modelo 785 DMP Titrino, calibrado com soluções de tampão 4 e 7 de acordo com a metodologia proposta pela literatura (AOAC, 2005). As amostras de maionese foram abertas e o eletrodo de potenciômetro foi imerso diretamente na amostra por um tempo de 5 minutos para estabilização e realização da leitura (XIONG, XIE, EDMONDSON, 2000). Todos os experimentos foram analisados três vezes, expressando-se os resultados como médias dessas três repetições.



Figura 10. Titulador automático para medição de pH e acidez

4.10 Acidez

Em um Becker foi pesado 5 g de cada tipo de maionese, em seguida, adicionou-se 50 ml de água isenta de CO₂, após a agitação, iniciou-se a análise. A acidez foi determinada em titulador automático Metrohm, modelo 785 DMP – Titrino, com reagente NaOH. Todos os experimentos foram analisados três vezes, expressando-se os resultados como médias dessas três repetições.

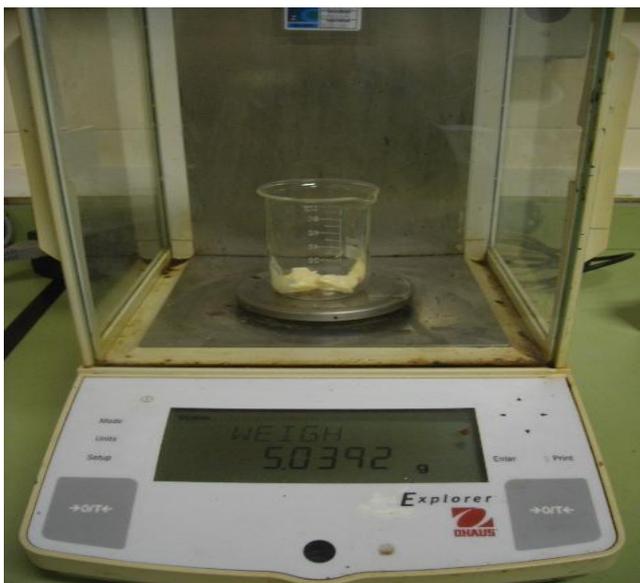


Figura 11. Pesagem da maionese para realização da acidez

4.11 Atividade de água

Para a análise da atividade de água foram pesados $2 \pm 0,5$ g de amostra de maionese em uma cápsula de plástico. As cápsulas foram acopladas em um medidor de leitura direta Aqualab – S3TEB - Novasina Aw-center 503-C (Novasina AG, Zurich, Switzerland) a 25°C (SU *et al.*, 2010). Todos os experimentos foram analisados três vezes, expressando-se os resultados como médias dessas três repetições.



Figura 12. Equipamento para determinação da atividade de água

4.12 Análise Sensorial

Para avaliação da estabilidade sensorial foi realizado um teste de aceitação no Laboratório de Análise Sensorial e Instrumental da Embrapa Agroindústria de Alimentos, RJ, para comparação entre a maionese sem adição de OEO e adicionada de 0,4% de OEO. Os testes foram realizados em dois momentos distintos (2013 e 2014) com provadores não treinados, de ambos os sexos, avaliaram as amostras de maionese adicionada de OEO.

A aceitabilidade global da maionese foi avaliada por 93 consumidores segundo método descrito por Meilgaard, Civille & Carr (1991). A apresentação das amostras foi de forma monádica e balanceada segundo MacFIE *et al.* (1989), em copos descartáveis de 50mL. Concomitantemente foi oferecido pão de forma e espátulas descartáveis para que a amostra fosse passada sobre o pão de acordo com o modo de consumo de cada indivíduo. Os julgadores receberam, juntamente às amostras, um copo de água à temperatura ambiente. As amostras foram codificadas aleatoriamente com números de três dígitos e servidas no Laboratório de Análise Sensorial e Instrumental da Embrapa Agroindústria de Alimentos, RJ.

Junto com a amostra, cada indivíduo recebeu uma ficha de avaliação para assinalar o grau de aceitação em escala hedônica variando de: 1 – desgostei extremamente a 9 – gostei extremamente, e água mineral para ingerir entre as amostras a fim de evitar o sabor residual. Nessa mesma ficha, perguntou-se a intenção de compra em uma escala estruturada de 5 pontos, variando entre 5 – certamente compraria este produto e 1 – certamente não compraria este produto e disponibilizou-se espaços para comentários a respeito do produto.

4.13 Análise Estatística

Os dados observados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 95% ($p < 0.05$) e teste Tukey usando o software estatístico XLSTAT versão 7.5 (2007).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação da multiplicação microbiana em maionese com e sem OEO

Como resultado, não houve contagem de colônias nas placas da amostra de maionese com OEO em todos os tempos avaliados. Para amostra de MBA sem OEO, os resultados foram 3,20; 3,10; 3,18 e 3,09 log UFC/g de maionese para os tempos 0, 2, 4 e 24 horas respectivamente.

Os resultados indicaram que o óleo essencial de orégano possui atividade antimicrobiana frente a SE. Em um estudo, Silva et al. (2010) compararam 5 marcas comerciais de OEO e os resultados da avaliação *in vitro* indicaram que todas as marcas apresentavam atividade antimicrobiana com SE.

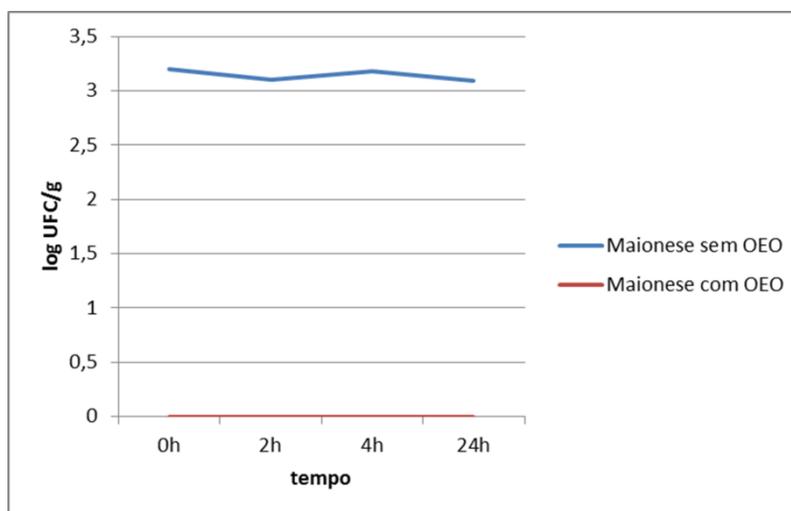
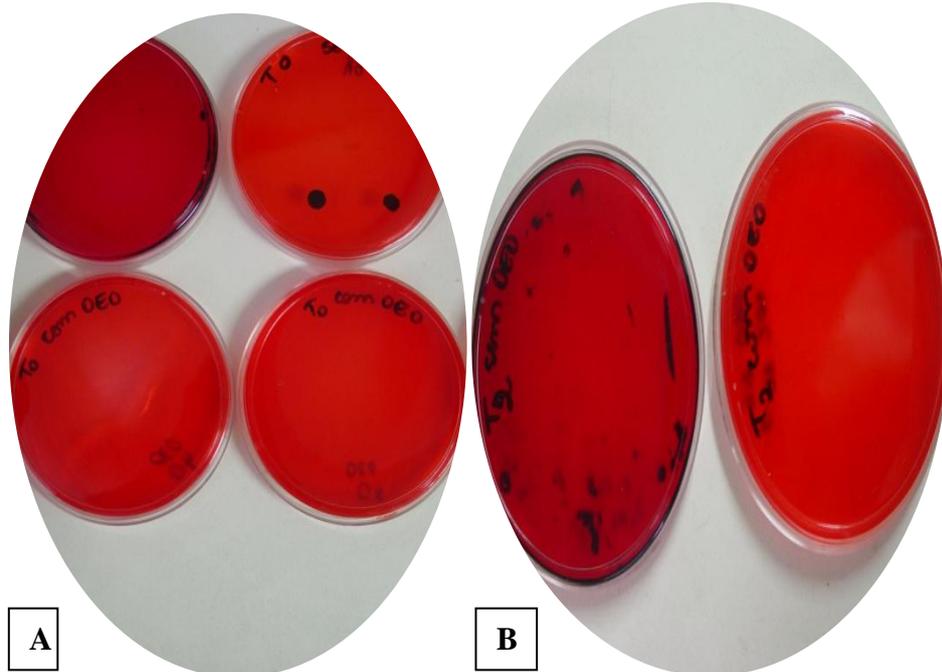
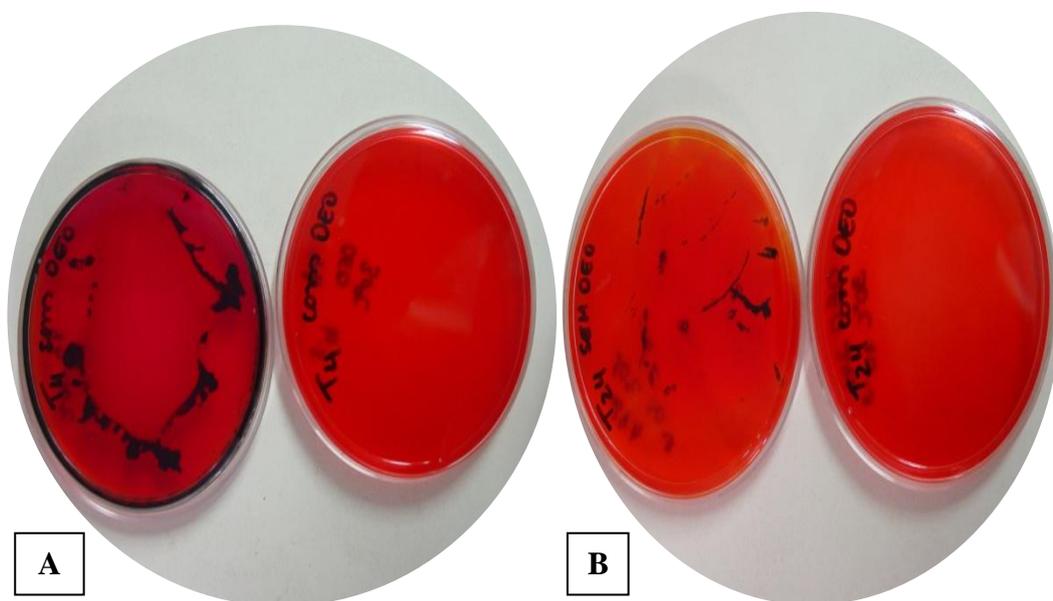


Figura 13- Curva de sobrevivência de *Salmonella* Enteritidis na maionese de baixa acidez com e sem adição de óleo essencial de orégano.

As figuras 14 a 17 mostram a sobrevivência de SE em maionese sem OEO e com 0,4% de OEO durante armazenamento a 30°C.

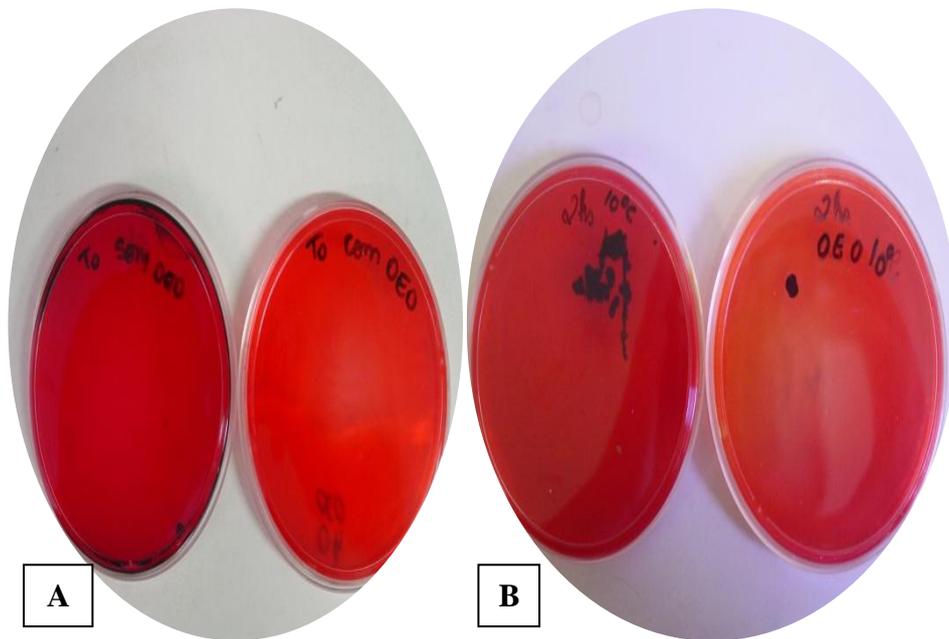


Figuras 14 – sobrevivência de *Salmonella* Enteritidis em Meio Ágar XLD.
 Placas T₀ e T₂ semeadas com maionese (sem e com OEO) armazenadas a 30°C
 A=T₀ e B=T₂



Figuras 15 – sobrevivência de *Salmonella* Enteritidis em Meio Ágar XLD.
 Placas T₄ e T₂₄ semeadas com maionese (sem e com OEO) armazenadas a 30°C
 A= T₄ e B=T₂₄

As Figuras 16 a 18 mostram a sobrevivência de SE em maionese sem OEO e com 0,4% de OEO durante armazenamento a 8°C.



Figuras 16– sobrevivência de *Salmonella* Enteritidis em Meio Ágar XLD. Placas T_0 e T_2 semeadas com maionese (sem e com OEO) armazenadas a 8°C
A= T_0 e B= T_2

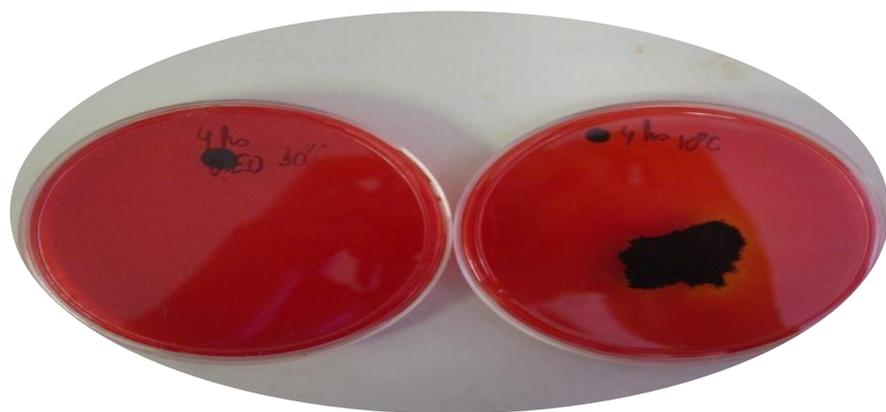
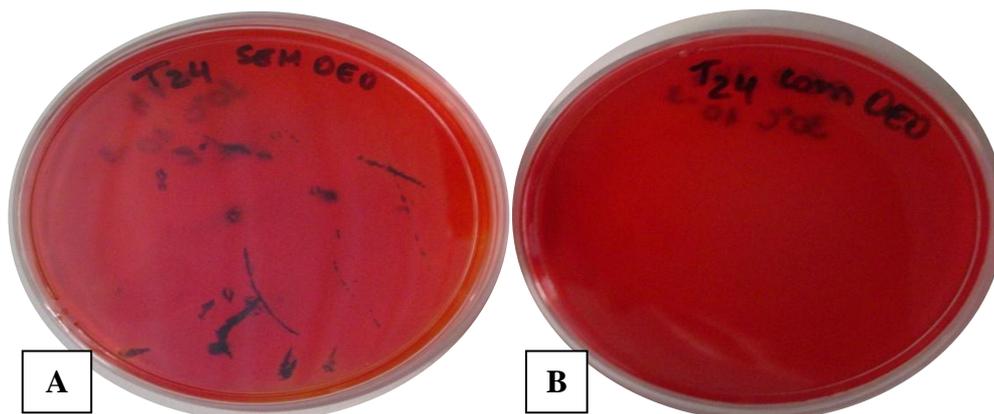


Figura 17 – sobrevivência de *Salmonella* Enteritidis em Meio Ágar XLD. Placa T_4 semeada com maionese (com OEO e sem) armazenada a 8°C



Figuras 18 - sobrevivência de *Salmonella* Enteritidis em Meio Ágar XLD. Placas T₂₄ semeadas com maionese (sem e com OEO) armazenadas a 8°C
A= T₂₄ sem OEO e B= T₂₄ com OEO

Souza, Stamford e Lima (2006) avaliaram a sensibilidade de vários microrganismos ao óleo essencial de orégano: *Aeromonas hydrophilla*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enterica*, *Serratia mercencens*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, e *Yersinia enterocolitica*. Todos os microrganismos testados foram sensíveis à presença do óleo essencial de orégano. Henn *et al.* (2010) verificaram em seu estudo que uma concentração mínima de OEO adicionada a produtos alimentícios já é suficiente para ser letal a bactérias como *Salmonella* e *Clostridium*.

O resultado obtido difere da maioria dos estudos, nos quais se relatam que bactérias Gram-Positivas são mais sensíveis a óleos essenciais do que as bactérias Gram-Negativas, pois neste estudo, a SE, que é uma bactéria Gram-negativa, foi sensível ao OEO. Essa característica está associada à estrutura desse microrganismo, constituída de uma membrana externa que encobre a parede celular, restringindo a difusão de compostos hidrofílicos através da camada lipossacáridica. Entretanto, pequenos solutos hidrofílicos são capazes de passar por essa membrana externa por meio de poros hidrofílicos formados por canais de proteínas de membranas. Dessa maneira, considera-se que a membrana externa sirva como uma barreira de penetração para macromoléculas e compostos hidrofóbicos; e é por essa razão que bactérias Gram-negativas são relativamente

resistentes a “drogas” hidrofóbicas, como os óleos essenciais (RESENDE, 2013; BURT, 2004).

Santurio *et al.*, (2007) avaliaram a atividade antibacteriana de óleos essenciais de orégano, tomilho e canela em 60 amostras de *Salmonella* Enteritidis isoladas de carcaças de frangos e observaram que os óleos foram capazes de inibir o crescimento dos principais sorovares de SE. Constatou-se que a atividade do óleo de orégano é superior ao do tomilho, e este superior ao de canela. Segundo Santurio *et al.*, (2007), podem ser esperados melhores resultados com a associação de óleos essenciais, para proporcionar sinergismo entre os óleos. A associação dos princípios ativos timol mais carvacrol apresentou maior inibição contra *Salmonella*, mostrando efeito sinérgico entre os princípios ativos (ZHOU *et al.*, 2000).

Além da composição química do alimento, outros fatores podem influenciar a atividade inibitória dos óleos essenciais, como a temperatura de armazenamento e o pH (BETTINI, 2005).

Apesar de pesquisadores comprovarem a ação de vários constituintes isolados presentes na composição química do OEO, como antibacterianos, outros fatores devem ser levados em consideração para se atribuir atividade antibacteriana a um óleo essencial, como o sinergismo entre os componentes.

5.2 Índice de Peróxido

A oxidação lipídica ocorre quando o oxigênio atmosférico ou aquele que está dissolvido no óleo reage com ácidos graxos insaturados presentes e tem sido classificada como a principal forma de deterioração que afeta a qualidade sensorial e nutricional dos alimentos (CHOE; MIN, 2009). Autoxidação pode ser medida quer pelo desaparecimento de um dos reagentes (geralmente de O₂) ou pela formação dos produtos principalmente hidroperóxidos e outras moléculas formadas pela decomposição de hidroperóxidos (AMORATI, FOTI, VALGIMIGLI, 2013). Os hidroperóxidos são produtos da oxidação primária e são medidos por meio de valores de índice de peróxido (IP), sendo um método muito útil para prever o aparecimento de ranço. A maioria dos métodos que medem hidroperóxidos lipídicos baseia-se na capacidade dos peróxidos de oxidar compostos indicadores (DAMODARAM; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Neste trabalho, observamos que o índice de peróxido das amostras analisadas aumentou de acordo com o tempo de estocagem ao longo das oito semanas, sendo que durante todo o período de observação, a maionese adicionada de OEO, apresentou o menor valor de índice de peróxido quando comparada as maioneses controle e maionese adicionada de BHT (Tabela 4). Os valores de peróxido tendem a aumentar 15 dias após o armazenamento (DEPREE; SAVAGE, 2001). A atividade antioxidante do OEO pode ser aqui comprovada por um mecanismo de prevenção, ou seja, a redução da formação ou retardo do aparecimento de hidroperóxidos e peróxido de hidrogênio, que iniciam a peroxidação, como pode ser observado na amostra MOEO.

Alguns compostos fenólicos foram descritos por apresentarem forte inibição sobre o valor de peróxido, a atividade antioxidante dos compostos fenólicos podem ocorrer a partir de 3 mecanismos como a quebra da cadeia antioxidante, destruidor de hidroperóxidos e quelante de metais (Heim *et al.*, 2002;. Frankel, 2005). O orégano teve atividade antioxidante ($P > 0,05$) em comparação com BHT.

Tabela 4 . Índice de Peróxido (meq./kg) das amostras de maionese

Amostras	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
MC	1,35 ± 0,07 ^{A,h}	1,41 ± 0,17 ^{A,g}	1,55 ± 0,63 ^{B,g}	1,77 ± 0,62 ^{B,f}	3,44 ± 0,68 ^{C,b}	3,07 ± 0,11 ^{C,c}	3,67 ± 1,46 ^C	3,70 ± 0,99 ^{C,a}
MBHT	1,44 ± 0,32 ^{A,g}	1,38 ± 0,30 ^{A,h}	1,34 ± 0,21 ^{A,h}	1,55 ± 0,08 ^{B,g}	2,30 ± 0,31 ^{C,e}	3,22 ± 1,07 ^{C,b}	3,18 ± 0,94 ^{C,d}	3,25 ± 0,99 ^{C,d}
MOEO	1,02 ± 0,03 ^{A,i}	1,38 ± 0,13 ^{B,h}	1,24 ± 0,07 ^{B,h}	1,48 ± 0,05 ^{B,g}	1,77 ± 0,15 ^{C,f}	2,12 ± 0,03 ^{D,e}	2,23 ± 0,60 ^{D,e}	2,68 ± 0,51 ^{E,c}

MC = maionese controle; MBHT = maionese com BHT; MOEO = maionese com óleo essencial de orégano
T = tempo em semanas. Para uma mesma linha, valores seguidos da mesma letra maiúscula não apresentaram diferença estatística entre si ($p < 0,05$) para uma mesma coluna, valores seguidos da mesma letra minúscula não apresentaram diferença estatística entre si ($p < 0,05$).

5.3 Dienos e Trienos Conjugados

A auto-oxidação dos ácidos linoléico e linolênico produz produtos conjugados, que absorvem UV luz a 232 nm, e os seus segundos produtos de oxidação, são as cetonas, que absorvem a 272-268 nm. Hidroperóxidos e dienos conjugados são produzidas durante a primeira fase da oxidação lipídica pela reação entre os radicais peróxil e oxigênio (3O_2) e na ocasião de temperaturas elevadas ou na presença de metais, são prontamente quebrados em compostos menores tais como aldeídos,

cetonas, ácidos, ésteres e álcoois (BOROSKI *et al.*, 2012). Neste estudo, a concentração de OEO, afetou significativamente ($p < 0,05$) a formação de dienos conjugados.

Os resultados das determinações de dienos conjugados não informam o grau de deterioração do óleo, pois o efeito da oxidação sobre diferentes ácidos graxos insaturados varia em qualidade e magnitude. Entretanto, as variações nas concentrações de dienos conjugados com o tempo oferecem dados suficientes para o acompanhamento da oxidação de uma mesma amostra (TELLES, 2006).

Os dienos são uma boa indicação das alterações que ocorrem durante o processo oxidativo, sua análise é considerada complementar a de índice de peróxidos, pois por serem instáveis, os peróxidos são rapidamente formados e quebrados em compostos menores, enquanto os dienos conjugados que se formam concomitantemente, permanecem no alimento (DEL RÉ e JORGE, 2006).

Para avaliar a oxidação primária, o método de dienos conjugados é mais rápido e simples que o método do índice de peróxido e requer muito pouca amostra. Entretanto, como o valor obtido depende da composição de ácido graxo da amostra, o método de dienos conjugados não pode ser usado para comparação direta do estado oxidativo das diferentes espécies de óleos e gorduras (TELLES, 2006).

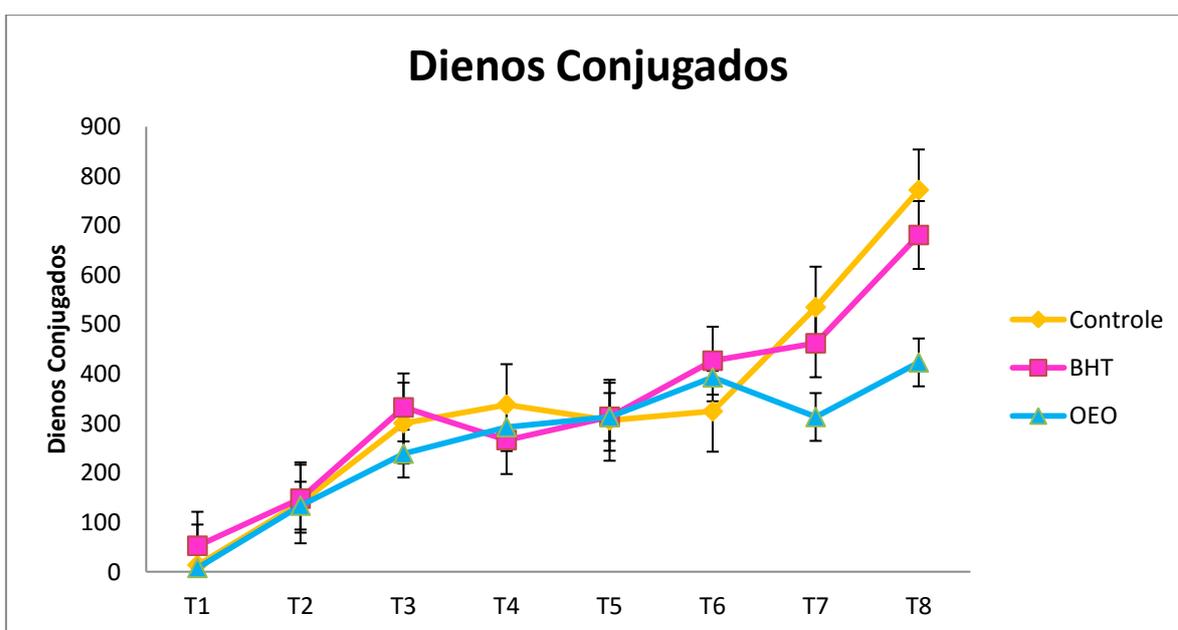


Figura 19 – Formação de dienos conjugados durante a estocagem até 8 semanas

Após a segunda semana, os resultados apresentaram diferenças significativas entre si para os tratamentos (figura 19). O óleo essencial de orégano mostrou um efeito protetor contra a formação de dienos em relação à amostra controle. Não houve uma tendência clara na formação de dienos conjugados. No entanto, menor formação foi observada na amostra com OEO. Durante o armazenamento a concentração de dienos conjugados aumentou de 14 para 772 na amostra controle, enquanto que a amostra com OEO aumentou de 8 para 423.

A absorvância em UV a 268 nm é a medida de trienos conjugados e produtos secundários de oxidação tais como cetodienos conjugados e dienais. A oxidação de ácidos graxos poliinsaturados pode ser analisada pelo aumento da absorvância na faixa do espectro ultravioleta. Durante a oxidação, lipídios contendo dienos ou polienos apresentam uma alteração na posição de suas duplas ligações resultado da isomerização e conjugação. A formação de dienos e trienos é proporcional ao ganho de oxigênio e à formação de peróxidos durante os estágios iniciais de oxidação (TELLES, 2006).

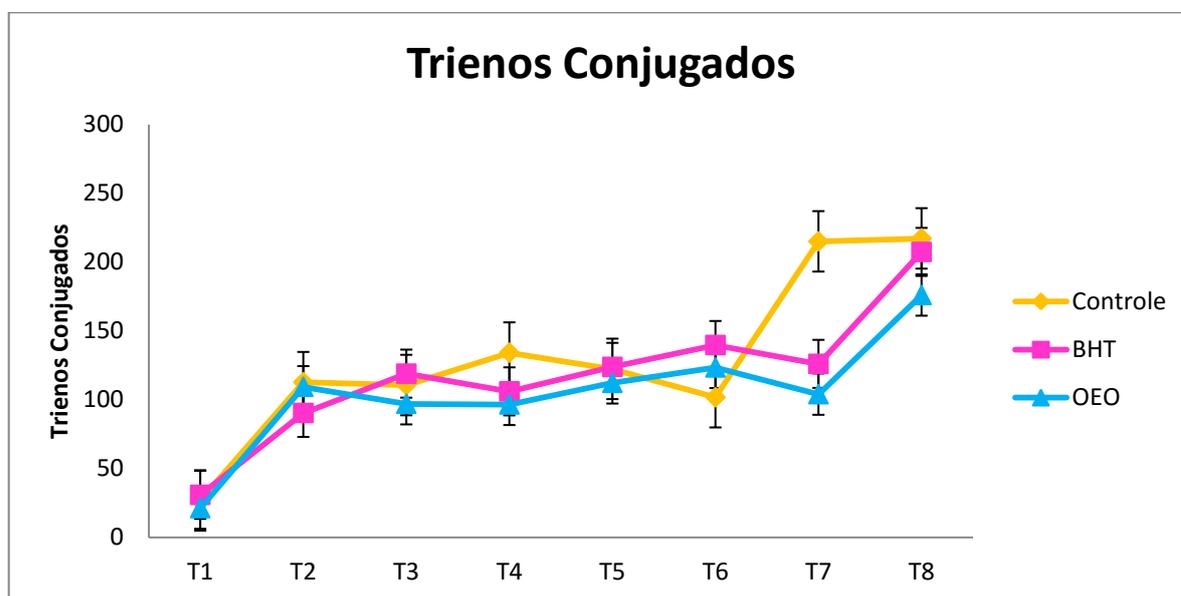


Figura 20 – Formação de trienos conjugados durante a estocagem da maionese

A partir da quinta semana de armazenamento, a concentração de trienos conjugados (figura 20) diminuiu significativamente entre os tratamentos controle e OEO. O comportamento das amostras observado na análise de dienos conjugados foi o mesmo para o índice de peróxido, o valor de trienos conjugados aumentou de

acordo com o tempo de estocagem e a amostra adicionada de óleo essencial de orégano se destacou por possuir o menor valor de trienos conjugados.

A medida de ácidos dienóicos conjugados é um método alternativo para monitorar estudos sobre a oxidação de óleos. Seus resultados apresentam correlação satisfatória com índices de peróxido. Isto porque o grau de mudança na absorção só tem boa correlação com o grau de oxidação nos primeiros estágios. Durante as etapas iniciais de autooxidação de ácidos graxos poliinsaturados, o aumento de peróxidos ocorre paralelo ao incremento na absorção de UV pelos dienos conjugados, sendo útil a medida do valor de dienos conjugados na avaliação da oxidação lipídica (TELLES, 2006).

As limitações do método são a forte dependência a composição de ácidos graxos na amostra investigada. Óleos que contêm grande quantidade de ácidos graxos polinsaturados (PUFAs) terão um aumento mais rápido em dienos conjugados em comparação com óleos com menos PUFAs. Por conseguinte, o método não pode ser utilizado para comparar a oxidação em óleos com composição diferentes de ácidos graxos. Além disso, o método só é útil para a medição de alterações nos óleos que contêm quantidades substanciais de ácidos graxos altamente insaturados (KULAS, ACKMAN, 2001).

5.4 pH

A segurança microbiológica da maionese pode ser assegurada através do controle do pH, os dados da literatura a respeito deste parâmetro são escassos, entretanto, Smittle (1977) sugeriu que para manter uma maionese comercial livre de *Salmonella* o pH deve ser 4,10 ou menos e/ou utilizar ovos pasteurizados. Radforde e Board (1993) recomendam o uso de vinagre como acidulante e pH em torno de 4,10 ou menos. Perales e Garcia (1990) também recomendam que o pH da maionese deva situar-se entre 4,0 e 3,60.

A segurança microbiológica da maionese também pode ser avaliada através dos valores de acidez (DODSON, EDMONDSON, SHEARD, 1996). Tem sido demonstrado que o pH da maionese é determinado principalmente pela relação de ovo e vinagre e cai à medida que a proporção diminui. O aumento da concentração de sal irá reduzir o pH da maionese. No entanto, muito sal irá resultar em um produto com características organolépticas inaceitáveis (XIONG, XIE,

EDMONDSON, 2000). Xiong *et al.* (1998) recomenda que para receitas seguras deve ser utilizado pelo menos 20 ml de vinagre, por gema de ovo fresco. O pH não apresentou variação significativa entre os tratamentos e nem para cada tratamento ao longo do tempo, provavelmente pelo efeito tampão entre o vinagre e o ovo (XIONG, XIE, EDMONDSON, 2000). A figura 21 mostra a variação do pH durante a estocagem.

A maionese é um produto de emulsificação com pH baixo (SU *et al.*, 2010), porém, a qualidade do ovo utilizado pode afetar a sua qualidade, por isso, recomenda-se sempre a utilização de ovos frescos (XIONG, XIE, EDMONDSON, 2000).

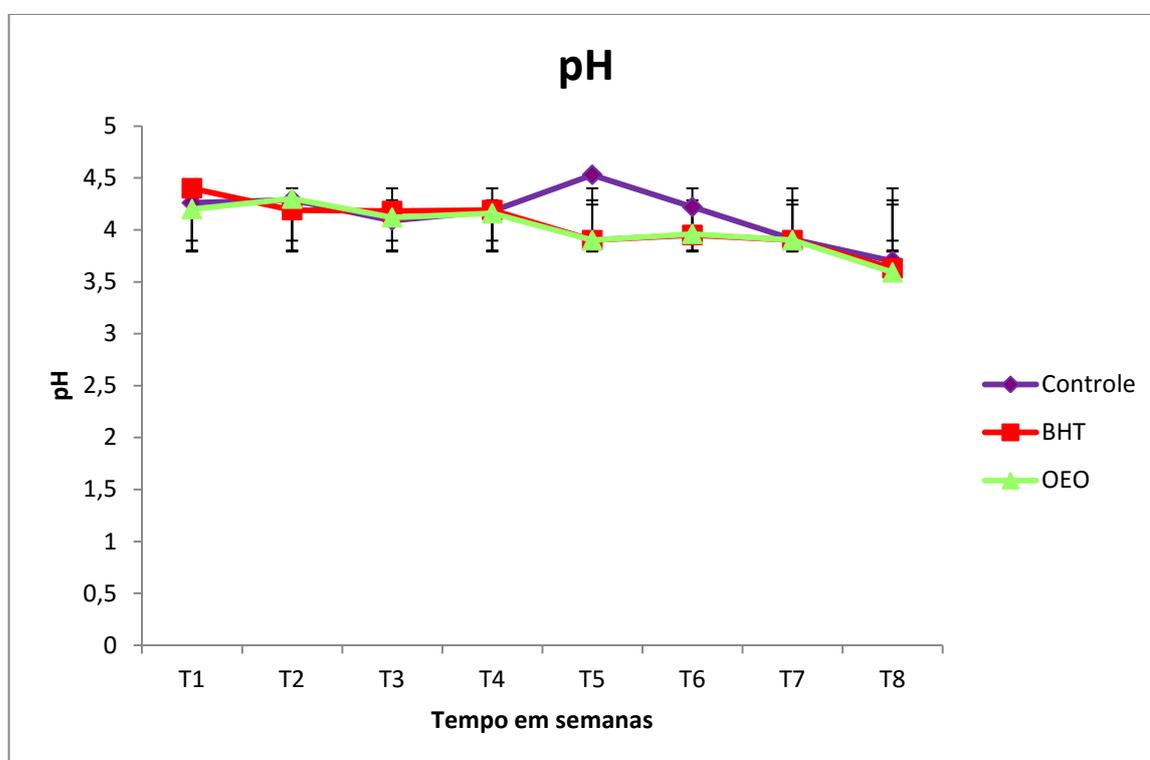


Figura 21. Variação dos valores de pH das amostras de maionese Controle, BHT e OEO submetidas a armazenamento durante 8 semanas a 10°C

5.5 Acidez

No processo de refino, a acidez dos óleos vegetais é reduzida implicando numa medida de controle de qualidade. Com a oxidação não enzimática, a acidez aumenta.

No processo de refino, a acidez dos óleos vegetais é reduzida implicando numa medida de controle de qualidade. Maior acidez (Figura 22) pode ser observada na maionese controle, o que indica o início de decomposição dos lipídios e a formação de ácidos graxos livres. Deste modo, o valor da acidez determina o estado de conservação da amostra (SILVA *et al.*, 2010).

O valor da acidez aumenta gradualmente de acordo com o período de armazenamento, este aumento foi provavelmente devido à atividade das enzimas hidrolíticas e oxidativas presentes em ovos. Por outro lado, pode ser notado que a utilização de OEO em amostras de maionese inibe significativamente ($P < 0,05$) o progresso da acidez, isso pode ser devido aos fitoconstituintes de orégano (KISHK, ELSHESHETAWY; 2013).

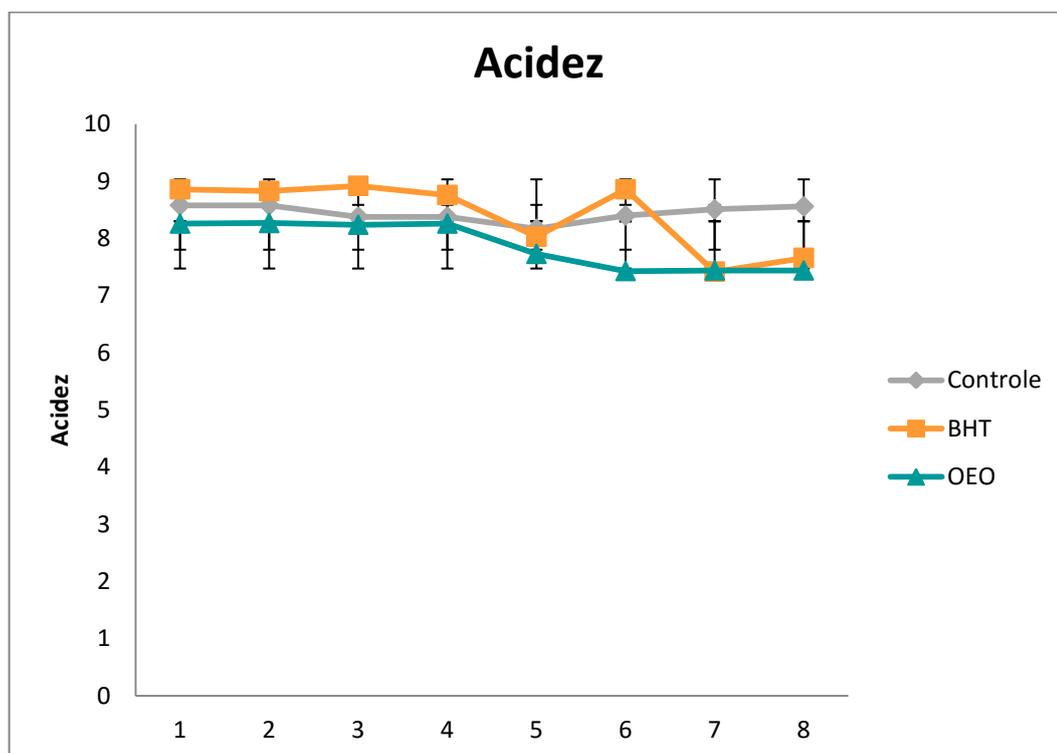


Figura 22. Acidez das amostras de maionese Controle, BHT e OEO submetidas a armazenamento durante 8 semanas a 10°C

5.6 Atividade de Água

A atividade de água é um parâmetro que mede a quantidade de água livre no alimento, sendo definida como a relação existente entre a pressão parcial de vapor de água contida na solução ou no alimento e a pressão parcial de vapor da água pura, a uma dada temperatura (MARTIN, 2005).

Na maior parte do tempo, os valores de atividade de água não diferiram estatisticamente, diferença significativa entre os tratamentos, só pode ser observada na sétima semana de estocagem (figura 23). A disponibilidade de água em um alimento pode influenciar o metabolismo e multiplicação de microrganismos. A adição de NaCl a um alimento, tende a reduzir a sua atividade de água, como foi observado no início da estocagem das amostras de maionese (LANDGRAF, 2008).

Alguns autores observaram que a sobrevivência de *Salmonella* é tanto maior quanto menor for a atividade de água, enquanto outros, observaram o oposto. Martin (2005) observou que em amostras de ovo com atividade de água de 0,9 houve intensa multiplicação de *Salmonella*. A maionese manteve a sua atividade de água nesta faixa, em todos os tratamentos, desta forma, é possível afirmar que o OEO pode agir como antimicrobiano, mas não por alterar atividade de água do produto, e sim por outros mecanismos.

As reações de deterioração dos alimentos têm sua velocidade relativa reduzida com a diminuição da A_w , até que numa A_w abaixo de 0,2 todas as reações são praticamente inibidas com a exceção da oxidação lipídica, reação esta que é a principal causa de deterioração da maionese de baixa acidez durante a estocagem, o que torna este parâmetro essencial para determinar a sobrevivência e multiplicação de microrganismos patogênicos assim como a sua vida de prateleira (DITCHFIELD, 2000).

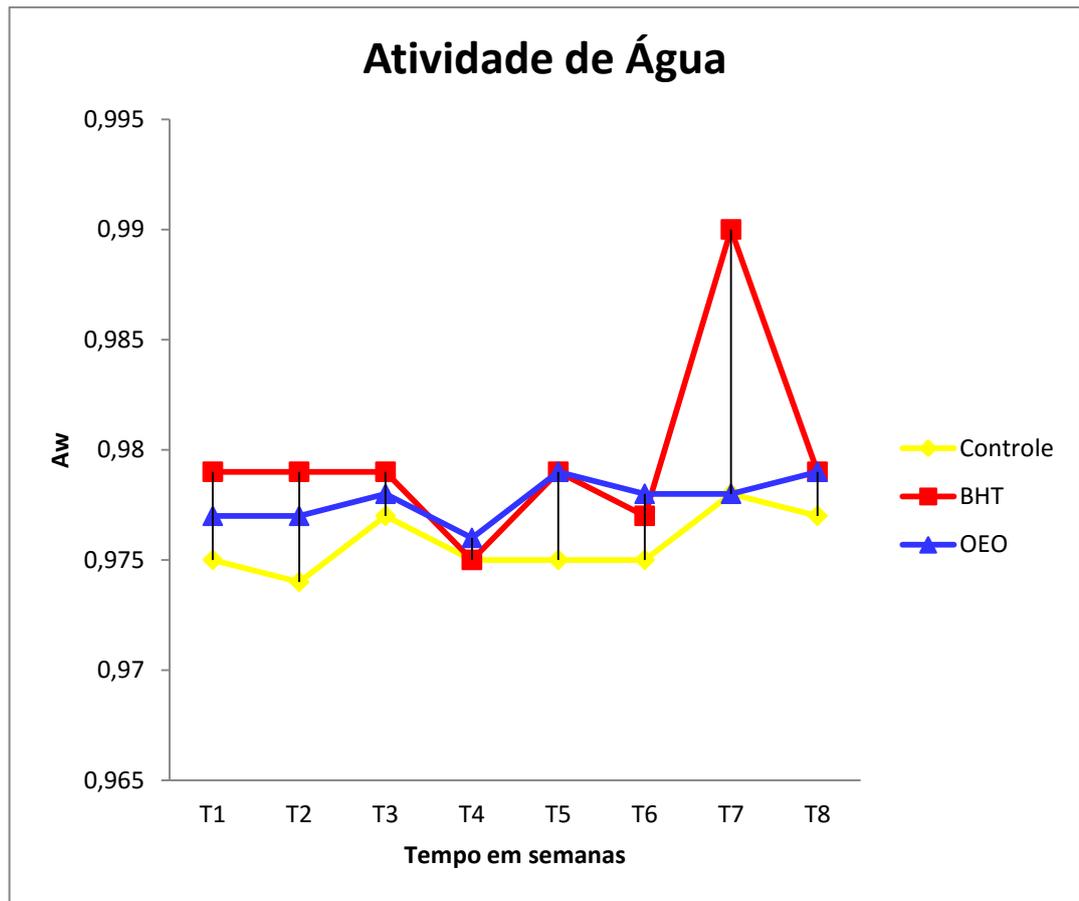


Figura 23 – Atividade de água das amostras de maionese Controle, BHT e OEO submetidas a armazenamento durante 8 semanas a 10°C

5.7 Análise Sensorial

Para avaliação da estabilidade sensorial foi realizado um teste de aceitação no LASI-CTAA para comparação entre a maionese sem adição de OEO e adicionada de 0,4% de OEO.

Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre as médias de aceitação sendo ambas bem aceitas pelos consumidores (7,28 e 7,19).

Em abril de 2014 um teste de aceitação sensorial comparando a maionese sem OEO e a maionese com adição de 0,4% (p/p) de OEO foi realizado na cidade de Muriaé-MG, em lanchonete, com 100 consumidores usuários da maionese caseira. Os resultados (Tabela 5) mostraram que não houve diferença significativa entre as médias de aceitação sendo ambas bem aceitas pelos consumidores. No entanto, ambas as amostras receberam maiores notas do que as recebidas no LASI-

CTAA, pois os consumidores de Muriaé já conheciam o produto sem OEO disponível em suas lanchonetes e pizzarias. O que indica que os provadores não apresentaram aversão à adição de OEO à maionese. Esses resultados indicam a viabilidade de utilização do OEO como agente antimicrobiano e antioxidante.

As notas recebidas pelas duas formulações são descritas pelo termo "gostei muito", o que não indica rejeição da maionese adicionada de OEO.

A análise sensorial é considerada uma análise subjetiva, uma vez que depende de um julgamento pessoal por meio dos órgãos do sentido, sendo influenciada pela experiência e capacidade do julgador; além de fatores externos, como o local da análise, estado emocional e de saúde do julgador e condições e formas de apresentação da amostra-teste, dentre outros (MINIM *et al.*, 2010). Na escala utilizada 9 representava a nota máxima "gostei muitíssimo" e 1 a nota mínima "desgostei muitíssimo". Na aceitação global, o provador faz uma análise geral de todos os atributos sensoriais perceptíveis da amostra (RESENDE, 2013).

As notas recebidas pelas duas formulações correspondem pela escala hedônica a "gostei muito", o que não indica rejeição da maionese adicionada de OEO.

Um estudo comparando amostras de maionese com óleo de soja, óleo de coco, óleo de gergelim e azeite de oliva e ervas aromáticas (manjerição, manjerona/tomilho e alecrim) mostrou que na avaliação da aceitação por atributos, não houve diferença significativa de preferência entre as amostras aromatizadas. Entre as amostras apresentadas, a maionese elaborada com óleo de gergelim obteve a menor aceitação (SALGADO, DANIELI, 2006).

As notas recebidas pelas duas formulações correspondem pela escala hedônica a "gostei muito", o que não indica rejeição da maionese adicionada de OEO.

Um estudo comparando amostras de maionese com óleo de soja, óleo de coco, óleo de gergelim e azeite de oliva e ervas aromáticas (manjerição, manjerona/tomilho e alecrim) mostrou que na avaliação da aceitação por atributos, não houve diferença significativa de preferência entre as amostras aromatizadas. Entre as amostras apresentadas, a maionese elaborada com óleo de gergelim obteve a menor aceitação (SALGADO, DANIELI, 2006).

Já em outro trabalho, os autores Silva *et al.*, (2016) observaram que durante a avaliação sensorial de maionese de baixa acidez os consumidores preferiram a concentração de 0,2% de OEO em vez de concentrações de 0,5 e 1,0%.

Em relação à intenção de compra, apenas 74% dos consumidores disseram comprariam a maionese com 0,2% de OEO, enquanto 10% disseram eles poderiam comprá-la e 16% afirmaram que não comprariam.

Tabela 5 – Médias de aceitação global das amostras de maionese nos anos de 2013 e 2014

	Aceitação Global	Médias Obtidas
Teste I (2013)	0,0% OEO	7,28 ± 1,63
	0,4% OEO	7,19 ± 1,45
Teste II (2014)	0,0% OEO	7,45 ± 1,40
	0,4% OEO	7,38 ± 1,47

6. CONCLUSÃO

Os dados obtidos com este trabalho permitem concluir que o óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare L.*) pode ser aplicado como antimicrobiano natural em maionese de baixa acidez porque apresentou efeito antimicrobiano contra *Salmonella* Enteritidis, reduzindo o risco da sobrevivência desse microrganismo nesse produto.

Quando aplicado em maionese de baixa acidez, o OEO apresentou melhor atividade antioxidante que o BHT, retardando o início da oxidação em 7 dias, no mínimo, quando comparado com o BHT.

Com a adição do OEO, houve um ganho na estabilidade oxidativa. A análise da atividade antioxidante do OEO na maionese demonstrou uma redução do nível de oxidação ao longo do armazenamento em relação à maionese sem OEO, confirmando o aumento da estabilidade oxidativa. A estabilidade físico-química da maionese não foi afetada pela adição de OEO.

O acompanhamento da estabilidade microbiológica do produto de acordo com os padrões da vigilância sanitária, indicou ausência de *Salmonella* spp. por um período de 56 dias (teve uma aumento da estabilidade microbiana de 22 dias).

A análise da aceitabilidade sensorial mostrou que houve boa aceitação da maionese de baixa acidez com adição de OEO.

Conclui-se que o óleo essencial de orégano pode ser aplicado em alimentos como antioxidante e antimicrobiano natural, um campo de interesse crescente na indústria de alimentos.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- ✓ A análise da atividade antioxidante ainda é um desafio, pois devido a sua complexidade estrutural vários métodos já foram testados. Logo, faz-se necessário a maior busca por um método que seja eficaz e eficiente para a determinação desta atividade.
- ✓ Estudos adicionais são necessários para determinar o sinergismo ou não entre os compostos fenólicos do óleo essencial de orégano e o antioxidante utilizado comercialmente em óleo de soja.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, I. A. Z. C.; PERESI, J. T. M.; ALVES, E. C.; MARQUES, D. F.; TEIXEIRA, I. S. C.; SILVA, S. I. L.; PIGNON, S. R. F.; TIBA, M. R.; FERNANDES, S. A. *Salmonella* Alachua: causative agent of a foodborne disease outbreak. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 19, n. 3, p. 233-238, 2015.

AMIN, M. H. H.; ELBELTAGY, A. E. MUSTAFA, M.; KHALIL, A. H. Development of low fat mayonnaise containing different types and levels of hydrocolloid gum. **Journal of Agroalimentary Processes and Technologies**, v. 20, n. 1, p. 54-63, 2014.

A.O.A.C (Association of Official Analytical Chemists). **Official methods of analysis**, 18 ed. Washington D.C.: AOAC, 2005.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. Viçosa-MG: Imprensa Universitária, 355p. 1995.

BACCAN, N.; ANDRADE, J. C.; GODINHO, O. E. S.; BARONE, J. S. **Química Analítica Quantitativa e Elementar**. 3ª Edição, São Paulo, Editora: Edgard Blücher LTDA. Instituto Mauá de Tecnologia, 2001.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.

BAILEY, A. E.; **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**, 5ª ed., John Wiley: New York, 1996, vol. 3.

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

BETTINI, P. P. **Atividade antimicrobiana de nisina e óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare L.*) sobre *Listeria monocytogenes* isolada de alimentos**. 2005. 46 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

BOROSKI, M.; GIROUX, H.; SABIK, H.; PETIT, H. V.; VISENTAINER, J. V.; PINTRO, P. T. M.; BRITTEN, M. Use of oregano extract and oregano essential oil as antioxidants in functional dairy beverage formulations. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, p. 167-174, 2012.

BOTRE, D. A., SOARES, N. F. F, ESPITIA, P.J.P., SOUSA, S., RENHE, I.R.T. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Revista Ceres**, v. 57, n.3, p. 283-291, mai/jun, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010. 158 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos)

BRASIL, Ministério da Saúde. **Secretaria de Vigilância em Saúde - SVS**. 2008. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profession al/visualizar_texto.cfm?idtxt=31758>. . Acesso em: 24 maio 2015.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução nº 2, de 15 de janeiro de 2007**. Aprova o Regulamento Técnico sobre Aditivos e Aromatizantes. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, 15 de janeiro de 2007.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução nº 276, de 22 de setembro de 2005**. Aprova o Regulamento Técnico para Especiarias, Temperos e Molhos. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, 22 de setembro de 2005.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF, 12 de janeiro de 2001.

BRENNAN, J. G. **Food Processing Handbook**. Weinheim, Alemanha: WILEYVCH Verlag GmbH & Co, 602 p. 2006.

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

CANSIAN, R. L.; MOSSI, A. J.; OLIVEIRA, D.; TONIAZZO, G.; TREICHEL, H.; PAROUL, N.; ASTOLF, V.; SERAFINI, L. A. Atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de ho-sho (*Cinnamomum camphora* Ness e Eberm Var. *Linaloolífera fujita*). **Revista de Ciência e Tecnologia**, v. 30, n. 2, p. 378-384, 2010.

CARMO, G. M. I.; DIMECH, C. P. N.; ALVES, R. M. S. Vigilância dos Surtos de doenças transmitidas por alimentos, Brasil, 1999-2006. **Revista Higiene Alimentar**, v. 21, n. 150, p. 353-354, 2006.

CARVALHO, J. C. A. P.; MANO, S.; CUNHA, F. L.; OLIVEIRA, L. A. T.; FRANCO, R. M. Pesquisa de *Salmonella* Enteritidis em ovos em casca. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 13, n. 2, p. 106-108, 2006.

CLEFF, M. B., MEINERZ, A. R., FARIA, R. O., XAVIER, M.O., SANTIN, R., NASCENTE, P.S., RODRIGUES, M.R., MEIRELES, M. C .A. Atividade inibitória do óleo essencial de orégano em fungos de importância médica e veterinária. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 5, p. 1291-1294, 2010.

COSTA, A.R.T.; AMARAL, M.F.Z.J.; MARTINS, P.M.; PAULA, J.A.M.; FIUZA, T.S.; TRESVENZOL, L.M.F.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 2, 2011.

CUSTÓDIO, D. L.; BURGO, R. P.; MORIEL, B.; BARBOSA, A. M.; REZENDE, M. I.; DANIEL, J. F. S.; PINTO, J. P.; BIANCHINI, E.; FARIA, T. J. Antimicrobial Activity of Essential Oils from *Pimenta pseudocaryophyllus* and *Tynanthus micranthus*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 6, p. 1363-1369, 2010.

CVE, 2014. Centro de Vigilância epidemiológica da Secretaria do Estado de São Paulo. **Dados estatísticos de surtos 2012**. Disponível em:

<http://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/hidrica/dados/Surto12_DTAESPfinal.xlsx>

Acesso em: 15 de abril de 2016.

DAMODARAM, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Artmed, 2010.

DICKINSON, E. **Food Colloids**: Fundamentals of Formulation. Potsdam, Alemanha: Royal Society of Chemistry, 438 p. 2001.

DITCHFIELD, C. **Estudo dos métodos para medida da atividade de água**. 2000. 195 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação da Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

DODSON, H. I., EDMONDSON, A. S., SHEARD, M. A. Microbiological safety of recipe mayonnaises. In: S. A. Edwards, **Culinary arts and sciences**: Global and national perspectives First International Conference on Culinary Arts and Sciences. (Southampton: Computational Mechanics Publications, 1996, p. 199-208).

EBONE, M. V.; CAVALLI, S. B.; LOPES, S. J. Segurança e qualidade higiênico-sanitária em unidades produtoras de refeições comerciais. **Revista de Nutrição**, v. 24, n. 5, p. 725-734, 2011

ELIAS, S. O.; TOMASCO, P. V.; ALVARENGA, V. O.; SANT'ANA, A. S.; TONDO, E. C. Contributor factors for the occurrence of salmonellosis during preparation, storage and consumption of homemade mayonnaise salad. **Food Research International**, v. 78, 2015.

ELIAS, S. O. **Modelagem dos Parâmetros Cinéticos de Multiplicação de *Salmonella* Enteritidis SE 86 em Maionese Caseira e Práticas de Preparo, Estocagem e Consumo desse Alimento no Rio Grande do Sul**. 2014. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014. Cap. 2.

KISHK, Y. F.M.; ELSHESHETAWY, H.E. Effect of ginger powder on the mayonnaise oxidative stability, rheological measurements, and sensory characteristics. **Annals of Agricultural Science**, v. 58, n. 2, p. 213-220, 2013.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M.. Microrganismos Patogênicos de Importância em Alimentos. In: FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. Cap. 4. p. 33-81.

FORSYTHE, S. J. Patógenos de origem alimentar. In: FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos** (2ª Ed). Porto Alegre: Artmed, 2013, p. 193-389.

GANTOIS, I.; DUCATELLE, R.; PASMANS, F.; HAESEBROUCK, F.; GAST, R. HUMPHREY, T. L.; IMMERSEEL, F. V. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella* Enteritidis, v. 33, p. 718-738, 2009.

GOLE, V. C.; ROBERTS, J. R.; SEXTON, M.; MAY, D.; KIERMEIER, A.; CHOUSALKAR, K. K. Effect of egg washing and correlation between cuticle and egg penetration by various *Salmonella* strains. **International Journal of Food Microbiology**, v. 18, p. 182–183, 2014.

GOVARIS, A.; SOLOMAKOS, N.; PEXARA, A.; CHATZOPOULOU, P. S. The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Salmonella* Enteritidis in minced sheep meat during refrigerated storage. **International Journal of Food Microbiology**, v. 137, p. 175-180, 2010.

HARISSON, L. J.; CUNNINGHAM, F. E. Factors influencing the quality of mayonnaise: a review. **Journal of Food Quality**, v. 8, n. 1, p. 1-20, 1985.

HENAO, O. L.; SCALLAN, E.; MAHON, B.; HOEKSTRA, R. M. Methods for Monitoring Trends in the Incidence of Foodborne Diseases: Foodborne Diseases Active Surveillance Network 1996–2008. **Foodborne Pathogens and Disease**. 2010.

HENN, J.D., BERTOL, T.M., MOURA, N. F., COLDEBELLA, A., BRUM, P. A. R., CASAGRANDE, M. Oregano essential oil as food additive for piglets: antimicrobial and antioxidant potential. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Brasília, v.39, n.8, p.1761-1767, 2010.

JACKSON, B. R.; GRIFFIN, P. M., COLE, D.; WALSH, K. A.; CHAI, S. J. Outbreak-associated *Salmonella enterica* Serotypes and Food Commodities, United States, 1998–2008. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 8, 2013.

JAEGER, J. **Produção de Maionese**. 2012. 160 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Química) - Curso de Ciências Tecnológicas, Universidade Regional de Blumenau, Blumenau, 2012.

JAY, J. M. **Modern Food Microbiology**. 6 ed. Local de publicação: Aspen Publishers, 625 p. 2000.

KULISIC, T.; RADONIC, A.; MILOS, M. Inhibition of lard oxidation by fractions of different essential oils. **Grasas y Aceites**, v. 56, p. 284-291, 2005.

KULAS, E. ;ACKMAN, R.G. Different tocopherols and the relationship between two methods for determination of primary oxidation products in fish oil. **Chemistry**, vl. 49, p. 1724-1729, 2001.

LAHLOU, M. Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. **Phytotherapy Research**, v.18, p. 435-448, 2004.

LIMA, R .K.; CARDOSO, M. G.; MORAES, J. C.; CARVALHO, S. M.; MELO, B. A.; VIEIRA, S. S. Composição química e toxicidade de óleos essenciais para o pulgão-verde *Schizaphis graminum* (Rondani, 1852). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.81, n.1, p. 22-29, 2014.

LIMA, M. E. L.; CORDEIRO, I.; YOUNG, M. C. M.; SOBRA, M. E. G.; MORENO, P. R. H. Antimicrobial activity of the essential oil from two specimens of Pimenta

pseudocaryophyllus (GOMES) L. R. Landrum (Myrtaceae) native from São Paulo State – Brazil, **Pharmacologyonline**, v. 3, p. 589-593, 2006.

LOPES, C. O. **Uso de especiarias viabiliza a redução do teor de sódio em maionese e requeijão cremoso**. 2014. 231 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2014.

LUCA, A. N. B.; KOERICH, G. M. D. **Perfil Epidemiológico dos Surtos de DTA Causados por *Salmonella* sp. em Santa Catarina, Brasil, Notificados no SINAN NET de 2006 A 2008**. 2009. 20 f. Monografia (Especialização) - Curso de Especialização em Microbiologia, Departamento de Microbiologia, Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2009.

LUGASI, A.; LOSADA, V.; HÓVÁRI, J.; LEBOVICS, I.; JACKÓCZI, I.; AUBOURG, S. Effect of pre-soaking whole pelagic fish in a plant extract on sensory and biochemical changes during subsequent frozen storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, p. 930-936, 2007.

MacFIE, H.J.; BRATCHELL, N.; GREENHOFF, K.; VALLIS, L.V. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. **Journal of Sensory Studies**, n.4, p.129-148, 1989.

MARQUES, A.; ENCARNAÇÃO, S.; PEDRO, S.; NUNES, M. L. In vitro antimicrobial activity of garlic, oregano and chitosan against *Salmonella enterica*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, ed. 10, p. 2357-2360, 2008.

MARTIN, G. **Comportamento de *Salmonella* em ovo em pó em função da atividade de água (Aa) do binômio tempo x temperatura de armazenamento**. 2005. 81 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Ciências dos Alimentos da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

MASUCHI, M. H.; CELEGHINI, R. M. S.; GONÇALVES, L. A.G; GRIMALDI, R. Quantificação de TBHQ (Terc Butil Hidroquinona) e avaliação da estabilidade

oxidativa em óleos de girassol comerciais. **Revista Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1053-1057, 2008.

MATTIA, C.; BALESTRA, F.; SACCHETTI, G.; NERI, L.; MASTROCOLA, D.; PITTIA, P. Physical and structural properties of extra-virgin olive oil based mayonnaise. **LWT - Food Science and Technology** , v. 62, p. 764-770, 2015.

MEILGAARD, M. , CIVILLE, G. V. , CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. Boca Raton: CRC Press, 1991. v.2., 354p.

MINIM, V. P. R.; SILVA, R. C. S. N.; MILAGRES, M. P.; MARTINS, E, M. F.; SAMPAIO, S. C. S.; VASCONCELOS, C. M. Análise descritiva: comparação entre metodologias. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 65, n. 374, p. 41-48, 2010.

NUNES, G. F. .M. Avaliação da modificação da composição e textura de um produto obtido por transesterificação enzimática da gordura de leite com óleo de soja. 2008. 128 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação da Escola de Engenharia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

OLIVEIRA, T. L. C.; SOARES, R. A.; PICCOLI, R. H. A Weibull model to describe antimicrobial kinetics of oregano and lemongrass essential oils against *Salmonella* Enteritidis in ground beef during refrigerated storage. **Meat Science** v. 93, p. 654-651, 2013.

OLIVEIRA, A. B. A.; PAULA, C. M. D.; CAPALONGA, R.; CARDOSO, M. R. I.; TONDO, E. C. Doenças Transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre**, v. 30, p. 279-285, 2010.

OLIVEIRA, F. A.; BRANDELLI, A.; TONDO, E. C. Antimicrobial resistance in *Salmonella* Enteritidis from foods involved in human salmonellosis outbreaks in southern Brazil. **The New Microbiologica**, v. 29, p. 49-54, 2006.

PERALES, I.; GARCIA, M. I. The influence of pH and temperature on the behaviour of Salmonella enteritidis phage type 4 in home-made mayonnaise. **Letters in Applied Microbiology**, v. 10, p. 19-22, 1990.

PINTO, T.J.A.; KANEKO, T.M.; PINTO, A.F. Ensaios toxicológicos de inocuidade. In: **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. São Paulo: Atheneu Editora, 2010. ed. 3, p. 697-772.

RADFORD, S. A.; BOARD, R. G. Review Fate of pathogens in home-made mayonnaise and related products. **Food Microbiology**, v. 10, p. 269-278, 1993.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Revista Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 755- 760, 2006.

RESENDE, J. M. V. **Óleo Essencial de *Lychnophora pinaster Mart.***: caracterização química, atividade antibacteriana, antifúngica, antiocrotogênica e hemolítica. 2013. 117 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

RODRIGUES, M. L. **Azeite de pequi: efeito do aquecimento em temperatura de fritura e utilização como ingrediente na formulação de maionese**. 2011. 94 p. Dissertação (Mestrado) - Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2011.

SALGADO, J. M.; CARRER, J. C.; DANIELI, F. Avaliação sensorial da maionese tradicional e maionese enriquecida com ervas aromáticas. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 731-734, 2006.

SÁNCHEZ-MALDONADO, A. F., SCHIEBER, A., GANZLE, M. G. Structure-function relationships of the antibacterial activity of phenolic acids and their metabolism by lactic acid bacteria, **Journal of Applied microbiology**, 111, p.1176-1184, 2011.

SANTOS, M.H.R; JUNIOR, G.S; BORTOLOZO, E.A.F.Q. Avaliação higiênico-sanitária da manipulação de alimentos, a nível residencial, a partir da ocupação do responsável pelo processamento. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v.5, n.1, p.346-355, 2011.

SANTURIO, J. M.; SANTURIO, D. F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHINI, P. R.; ALVES, S.H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente à sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola, **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p.803-808, 2007.

SEYDIM, A.C.; SARIKUS, G. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. **Food Research International**, v. 39, ed. 5, 639-644, 2006.

SILVA, J. P.L.; SOUZA, E. F.; MODESTA, R. C. D.; GOMES, I. A. SILVA, O. F.; FRANCO, B. D. G. M. Antibacterial activity of nisin, oregano essential oil, EDTA, and their combination against *Salmonella* Enteritidis for application in mayonnaise. **Revista Visa em Debate**, v. 4, n. 1, p. 83-91, 2016.

SILVA, J.P.L. **Avaliação da ação de antimicrobianos naturais no controle de *Salmonella* Enteritidis em salada de legumes com maionese**. 2007. 90 p. Tese (Doutorado) - Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007, Cap. 2.

SILVA, F. A. M; BORGES, M. F.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, 1999.

SMITTLE, R. B. Microbiology of mayonnaise and salad dressing: a review. **Journal of Food Protection**, 40, p. 415-422, 1977.

SOUZA, E.L., STAMFORD, T. L. M., LIMA, E. O. Sensitivity of Spoiling and Pathogen food-related bacteria to *Origanum vulgare*L. (*Lamiaceae*) essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, n .4, 2006.

STEFANAKIS, M. K., TOULOUPAKIS, E., ANASTASOPOULOS, E., GHANOTAKIS, D.; KATERINOPOULOS, H. E., MAKRIDIS, P. Antibacterial activity of essential oils from plants of the genus *Origanum*. **Food Control**, v. 34, p. 539-546, 2013.

SU, H. P.; LIEN, C. P.; LEE, T. A.; HO, J. H. Development of low-fat mayonnaise containing polysaccharide gums as functional ingredients. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 90, p. 806-812, 2010.

TAUXE, R. V.;; DOYLE, M. P.; KUCHENMÜLLER, T.; SCHLUNDT, J.; STEIN, C. E. Evolving public health approaches to the global challenge of foodborne infection. *International Journal of Food Microbiology*, v. 139, p. 16-28, 2010.

TURGIS, M.; VU, K. D.; DUPONT, C. LACROIX, M. Combined antimicrobial effect of essential oils and bacteriocins against foodborne pathogens and food spoilage bacteria. **Food International Research**, v. 48, p. 696-702, 2012.

WELKER, C.A.D.; BOTH, J.M.C; LONGARAY, S.M.; HAAS, S.; SOEIRO, M.L.T.; RAMOS, R.C. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimento (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v.8, n.1, p.44-48, 2010.

WOLFFENBÜTTEL, A. N. **Base da química dos óleos essenciais e aromaterapia:** abordagem técnica e científica. Editora: Roca. São Paulo, 2011, 92 p.

XIONG, R.; XIE, G.; EDMONDSON, A. S. Modelling the pH of mayonnaise by the ratio of egg to vinega. **Food Control**, v. 11, p. 49-56, 2000.

XIONG, R., XIE, G.; EDMONDSON, A. S. Microbiological safety indicator for mayonnaise recipes: ratio of egg yolk to white wine vinegar. In: J. S. A. Edwards & D.

Lee-Ross, **Culinary arts and sciences II**: Global and national perspectives. Second International Conference on Culinary Arts and Sciences. Worshipful Company of Cooks Centre for Culinary Research, Bournemouth, UK (p. 187-196), 1998.

ZHOU, F.; JI, B.; ZHANG, H.; JIANG, H.; YANG, Z.; LI, J.; LI, J.; YAN, W. The antibacterial effect of cinnamaldehyde, thymol, carvacrol and their combinations against the foodborne pathogen *Salmonella typhimurium*. **Journal of Food Safety**, v.27, p.124-133, 2000.