

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA**  
**DE ALIMENTOS**

**Franciele Maria Gottardo**

**Microencapsulação de óleos essenciais de orégano e canela combinados  
com ação sobre *Listeria monocytogenes* em produto cárneo**

**Passo Fundo**

**2021**

**Franciele Maria Gottardo**

**Nutricionista**

**Microencapsulação de óleos essenciais de orégano e canela combinados  
com ação sobre *Listeria monocytogenes* em produto cárneo**

Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Luciana Ruschel Dos Santos.

Coorientadora: Dr<sup>a</sup> Bárbara Biduski.

Linha de pesquisa: Qualidade e propriedades funcionais de alimentos.

**Passo Fundo**

**2021**

CIP – Catalogação na Publicação

---

G685m Gottardo, Franciele Maria  
Microencapsulação de óleos essenciais de orégano e  
canela combinados com ação sobre *Listeria monocytogenes*  
em produto cárneo / Franciele Maria Gottardo. – 2021.  
57 f. : il. color. ; 30 cm.

Orientadora: Luciana Ruschel dos Santos.

Coorientadora: Bárbara Biduski.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de  
Alimentos.) – Universidade de Passo Fundo, 2021.

1. Alimentos - Contaminação. 2. Listeriose. 3. Agentes  
anti-infecciosos. I. Santos, Luciana Ruschel dos, orientadora.  
II. Biduski, Bárbara, coorientadora. III. Título.

CDU: 664

---

Bibliotecário Luís Diego Dias de S. da Silva – CRB 10/2241

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO  
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINAVETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS**


A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**“Microencapsulação de óleos essenciais de orégano e canela combinados frente a  
*Listeria monocytogenes* em produtos cárneos”**

Elaborada por  
**Franciele Maria Gottardo**

Como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos**

**Comissão Examinadora**



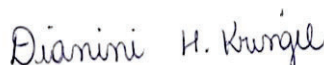
**Luciana Ruschel dos Santos, Dra., UPF  
(Orientador/Presidente)**



**Bárbara Biduski, Dra., UPF  
(coorientadora)**



**Christian Oliveira Reinehr, Dr., UPF**



**Dianini Hüttner Kringel, Dra., UDESC**

**Passo Fundo, RS, Brasil  
2021**

“A educação é o nosso passaporte para o futuro, pois o amanhã pertence as pessoas que se preparam hoje.”  
Malcolm X.

## RESUMO

Os produtos cárneos são classificados como alimentos perecíveis e possuem condições favoráveis para a multiplicação de microrganismos como a *Listeria monocytogenes*, um importante patógeno associado a alimentos prontos para consumo. Os Óleos Essenciais (OEs) são antimicrobianos naturais promissores para uso na indústria, mas seu sabor e aroma característicos podem prejudicar a aceitação pelo consumidor. Assim, neste estudo avaliou-se o potencial *anti-Listeria* de OEs de canela e orégano isolados e combinados, testados em matriz cárnea de forma encapsulada. O tratamento mais eficiente aplicado em salame tipo Italiano, verificando a aceitabilidade do consumidor. Inicialmente os OEs de canela e orégano isolados e combinados foram avaliados em ensaios de Agar Difusão e Concentração Inibitória Mínima (CIM) com as seguintes proporções estabelecidas: 100% orégano (T1), 100% canela (T2), 80% orégano/20% canela (T3), 50% orégano/50% canela (T4), 20% orégano/80% canela (T5). O tratamento mais eficaz foi avaliado por cromatografia gasosa (T4 – 50:50) e de forma isolada, avaliando a composição de cada OE e o sinergismo em OEs combinados. A combinação de OE com melhor ação *anti-Listeria* foi encapsulada por coacervação simples com alginato de sódio, reticulado com cloreto de cálcio em atomizador e liofilizada. As cápsulas foram avaliadas quanto a eficiência de encapsulação (EE), morfologia e ação contra *L. monocytogenes* em matriz cárnea com concentrações de 1,5%, 2%, 2,5% e 3%. As cápsulas de alginato de sódio vazias (TA) ou com OE (50% canela/50% orégano - TOE) foram adicionadas em salames do tipo italiano, uma amostra controle sem cápsulas (C) também foi produzida. Os salames foram avaliados quanto às propriedades tecnológicas e microbiológicas além da avaliação sensorial. Os principais componentes encontrados nos OE de canela e orégano foram cinamaldeído (85,55%) e carvacrol (91,1%), respectivamente. Todos os tratamentos mostraram inibição de *L. monocytogenes* no Agar Difusão e inibição com a aplicação de até 3 mg/mL na CIM. O T4 (50% orégano/50% canela) apresentou melhor atividade *anti-Listeria* e foi selecionado para ser encapsulado, com EE de 98,36%. Quando aplicados em matriz cárnea formulada como salame tipo Italiano o tratamento com 2% de cápsula mostrou redução significativa da *L. monocytogenes* em relação ao controle. O índice de aceitabilidade das amostras de salame TOE foi de 58,67%, enquanto de 84,99% para a amostra controle e 82,75% para as amostras apenas com cápsulas de alginato e os atributos encontrados na CATA foram sabor amargo e picante, odor ácido, textura seca, odor e sabor de essência. Os OE combinados apresentaram potencial *anti-Listeria* e a técnica de microencapsulação permitiu alta eficiência de encapsulação. Entretanto, para melhorar a aceitabilidade do produto adicionado de OE podem ser necessárias outras técnicas de aplicação, encapsulação e liberação de OE, bem como uma ampliação do período de armazenagem dos alimentos com este tratamento.

Palavras-chave: Alginato de sódio. Encapsulação. *In situ*.

## ABSTRACT

Meat products are classified as perishable foods and have favorable conditions for the multiplication of microorganisms such as *Listeria monocytogenes*, an important pathogen associated with ready-to-eat foods. Essential Oils (OEs) are promising natural antimicrobials for use in industry, but their characteristic flavor and aroma can impair consumer acceptance. Thus, in this study, the anti-*Listeria* potential of isolated and combined cinnamon and oregano OEs was evaluated, tested in an encapsulated meat matrix. The most efficient treatment applied to Italian type salami, checking consumer acceptability. Initially the isolated and combined OEs of cinnamon and oregano were evaluated in assays of Agar Diffusion and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) with the following proportions established: 100% oregano (T1), 100% cinnamon (T2), 80% oregano / 20% cinnamon (T3), 50% oregano / 50% cinnamon (T4), 20% oregano / 80% cinnamon (T5). The most effective treatment was evaluated by gas chromatography (T4 - 50:50) and in isolation, evaluating the composition of each OE and the synergism in OEs combined. The combination of OE with the best anti-*Listeria* action was encapsulated by simple coacervation with sodium alginate, cross-linked with calcium chloride in an atomizer and lyophilized. The capsules were evaluated for encapsulation efficiency (EE), morphology and action against *L. monocytogenes* in a meat matrix with concentrations of 1.5%, 2%, 2.5% and 3%. Empty sodium alginate (TA) or OE (50% cinnamon / 50% oregano - TOE) capsules were added to Italian type salamis, a control sample without capsules (C) was also produced. Salamis were evaluated for technological and microbiological properties in addition to sensory evaluation. The main components found in cinnamon and oregano OE were cinnamaldehyde (85.55%) and carvacrol (91.1%), respectively. All treatments showed inhibition of *L. monocytogenes* in Agar Diffusion and inhibition with the application of up to 0.3 mg / mL in MIC. T4 (50% oregano / 50% cinnamon) showed the best anti-*Listeria* activity and was selected to be encapsulated, with an EE of 98.36%. When applied to meat matrix formulated as Italian type salami, the treatment with 2% capsule showed a significant reduction of *L. monocytogenes* in relation to the control. The acceptability index of TOE salami samples was 58.67%, while 84.99% for the control sample and 82.75% for the samples with only alginate capsules and the attributes found in CATA were bitter and spicy taste, acidic odor, dry texture, odor and essence flavor. The combined OE showed anti-*Listeria* potential and the microencapsulation technique allowed for high encapsulation efficiency. However, to improve the acceptability of the product added with OE, other techniques of application, encapsulation and release of OE may be necessary, as well as an extension of the food storage period with this treatment.

Keywords: Sodium alginate. Encapsulation. *In situ*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Efeito do óleo essencial nas bactérias.....	18
Figura 2 - Estruturas de componentes aromáticos de OE antimicrobianos.....	20
Figura 3 - Exemplos de cápsulas.....	21
Figura 4 - Métodos de microencapsulação.....	22
Figura 5 - Morfologia das partículas.....	22
Figura 6 - Estrutura molecular do alginato.....	24
Figura 7 - Ilustração esquemática da resposta ao estímulo do pH de micropartículas de alginato.....	24
Figura 8 - Tamanho de partícula versus método de encapsulação.....	26
Figura 9 - Resumo da aplicação da metodologia.....	29
Figura 10 - Morfologia da cápsula de alginato (A, B e C) e cápsula de alginato com OEs de canela e orégano (50:50, v/v (D, E e F).....	38
Figura 11 - Resultados em Log UFC/mL dos tratamento usados na in situ.....	39
Figura 12 - Fotografia das amostras de salame tipo Italiano controle (C), com 2% de cápsulas vazias (TA) e com 2% de óleo essencial encapsulado (TOE).....	41
Figura 13 - Análise sensorial das formulações de salame.....	42



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Morfologia relacionada com a qualidade da proteção do material nuclear frente à fatores externos.....	23
Tabela 2 - Componentes majoritários do OEs de canela, de orégano e combinação de ambos (50:50 v/v).....	35
Tabela 3 - Composição físico-química das formulações de salame tipo Italiano controle C, com 2% de cápsulas vazias (TA) e com 2% de óleo essencial encapsulado (TOE).....	40
Tabela 4 - Parâmetros de cor e textura das formulações de salame tipo italiano controle C, com 2% de cápsulas vazias (TA) e com 2% de óleo essencial encapsulado (TOE).....	41
Tabela 5 - Frequência dos atributos da CATA.....	58

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

OE – Óleo essencial

OECO – Óleo essencial de canela e orégano

CBM - Concentração bactericida mínima

CIM - Concentração inibitória mínima

EE - Eficiência de encapsulação

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

C - Controle

TA - Tratamento adicionado de 2% de cápsulas de alginato de sódio

TOE - Tratamento adicionado de 2% de cápsulas de OE

T1 - Tratamento com 100% OE de orégano

T2 - Tratamento com 100% OE de canela

T3 - Tratamento com 80% OE de orégano e 20% OE de canela

T4 - Tratamento com 50% OE de orégano e 50% OE de canela

T5 - Tratamento com 20% OE de orégano e 80% OE de canela.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 BACTÉRIAS DO GÊNERO <i>LISTERIA</i>.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2 <i>L. MONOCYTOGENES</i> EM PRODUTOS CÁRNEOS PRONTOS PARA CONSUMO.....</b>	<b>16</b>
<b>2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS.....</b>	<b>16</b>
2.3.1 Óleos essenciais de orégano ( <i>Origanum vulgare L.</i> ) e de canela ( <i>Cinnamomum spp.</i> )	19
<b>2.4 MICROENCAPSULAÇÃO.....</b>	<b>21</b>
2.4.1 AGENTES ENCAPSULANTES .....	23
2.4.2 COACERVAÇÃO SIMPLES .....	25
<b>3 MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ORÉGANO E CANELA COMBINADOS COM AÇÃO SOBRE <i>LISTERIA MONOCYTOGENESE</i> EM PRODUTO CÁRNEO.....</b>	<b>28</b>
<b>3.1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>28</b>
<b>3.2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>29</b>
3.2.1 Materiais.....	29
3.2.2 Composição dos óleos essenciais.....	30
3.2.3 Atividade <i>anti-Listeria</i> dos OEs.....	30
3.2.3.1 <i>Agar difusão</i> .....	30
3.2.3.2 <i>Concentração inibitória mínima (CIM)</i> .....	30
3.2.3.3 <i>Ação anti-Listeria das cápsulas contendo OEs em matriz cárnea</i> .....	31
3.2.4 Elaboração das cápsulas de OE.....	31
3.2.5 Eficiência de encapsulação (EE) .....	31
3.2.6 Morfologia.....	32
3.2.7 Formulação de salames tipo Italiano .....	32
3.2.8 Análises microbiológicas e físico químicas dos salames tipo Italiano.....	32
3.2.9 Análise sensorial .....	33
3.2.10 Análise estatística .....	33
<b>3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>34</b>
3.3.1 Atividade <i>anti-Listeria</i> dos OE .....	34

3.3.2 Composição dos Óleos Essenciais (OEs).....	35
3.3.3 Eficiência de encapsulação.....	36
3.3.4 Morfologia das cápsulas.....	37
3.3.5 Ação <i>anti-Listeria</i> dos OEs sobre matriz cárnea.....	38
3.3.6 Análises microbiológicas e físico químicas dos salames tipo Italiano.....	40
3.3.7 Análise sensorial dos salames tipo Italiano.....	42
<b>3.4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>45</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>46</b>
<b>APÊNDICE A – FREQUÊNCIA DOS ATRIBUTOS DA CATA.....</b>	<b>58</b>

# 1 INTRODUÇÃO

Os alimentos prontos para consumo à base de carne possuem meios que permitem a proliferação da *L. monocytogenes*, uma bactéria capaz de causar listeriose, uma doença veiculada por alimentos (DVA) de alta letalidade, capaz de sobreviver em baixas temperaturas e embalagens a vácuo (SAGOO et al., 2007; LIANOU; SOFOS, 2007). Com o aumento da população mundial o consumo médio global de carne *per capita* cresceu 75%, quadruplicando a produção de carne (FAO, 2017; MILFORD et al., 2019), indicando a necessidade de maiores cuidados com segurança desses produtos.

O interesse por produtos sem aditivos artificiais vem crescendo entre os consumidores e a adição de substâncias naturais com propriedades antimicrobianas são alternativas importantes. Os óleos essenciais (OE) possuem compostos antimicrobianos com ação comprovada frente à *L. monocytogenes* (CALO et al., 2015; CASTRO et al., 2017). Porém, possuem desvantagens como alta volatilidade e propriedades organolépticas características, que podem interferir na aceitabilidade de um produto alimentício (MERINO et al., 2019).

Assim, a microencapsulação pode ser uma alternativa de proteção e estabilidade para os compostos bioativos bem como para mascarar alterações sensoriais como sabor adstringente e amargo (BALLESTEROS et al., 2017).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial anti-*Listeria* em matriz cárnea de OE de canela e orégano isolados, combinados e encapsulados, e a aplicação destes em salame tipo Italiano, verificando a aceitabilidade do consumidor.

Para alcançar o objetivo principal, os seguintes objetivos específicos foram delineados:

- a) Verificar o potencial *anti-Listeria* de OE de canela e orégano isolados e combinados;
- b) Realizar a microencapsulação dos OE por coacervação simples utilizando alginato de sódio e cloreto de cálcio para reticulação
- c) Verificar a eficiência de encapsulação (EE) dos OE encapsulados;
- d) Aplicar as cápsulas de OE frente a *L. monocytogenes* em matriz cárnea e salame tipo Italiano;
- e) Realizar as análises microbiológicas, físico químicas das formulações para posteriormente avaliar a aceitação sensorial dos salames formulados.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 BACTÉRIAS DO GÊNERO *Listeria*

A *Listeria spp.* é uma bactéria Gram-positiva com formato de bastonete e o gênero compreende seis espécies: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri* e *L. grayi* (MCLAUHLIN, 1997). Microrganismos psicrotróficos e anaeróbicos facultativos, como a *L. monocytogenes*, são capazes de sobreviver e proliferar sob baixas temperaturas, em produtos embalados a vácuo ou atmosfera modificada, indicando que a bactéria pode se multiplicar durante o armazenamento do produto (SAGOO et al., 2007; LIANOU; SOFOS, 2007).

A espécie *Listeria* é um dos principais patógenos alimentares para humanos. O microrganismo consegue suportar diferentes tensões físico-químicas e pode persistir em diversos ambientes. A alta tolerância ao estresse é característica e permite ao mesmo persistir em ambientes de processamento de alimentos bem como no trato gastrointestinal dos hospedeiros e, subsequentemente, causar doenças (STRATAKOS et al., 2020; CHATURONGAKUL et al., 2008). Também se destaca por sua capacidade de sobreviver e multiplicar em baixas temperaturas e tolerar ambientes salinos (EFSA, 2018).

Bactérias do gênero *L. monocytogenes* podem ser encontradas em alimentos crus e processados, contaminados após o processamento. Não forma esporos e é facilmente eliminada por cozimento padrão (70 ° C), porém, devido a crescente popularidade dos produtos prontos para o consumo, o patógeno encontra condições para disseminação, o que mostra a importância de controlar a presença desse microrganismo na indústria de alimentos (LIANOU et al., 2007; ZUNABOVIC; DOMIG; KNEIFEL, 2011).

O microrganismo está amplamente distribuído no ambiente, solo, vegetação, águas superficiais e residuais, adubos agrícolas, assim como em alimentos (BUCHANAN et al., 2017). Queijos e carnes prontas para consumo são alimentos de alto risco, mas, a *L. monocytogenes* também é encontrada em diversos alimentos, incluindo frutas e vegetais (SWAMINATHAN; GERNER-SMIDT, 2007).

Alimentos como carne, aves e produtos lácteos têm sido mais frequentemente associados aos surtos de listeriose, que geralmente estão ligados a erros nas fábricas de processamento de alimentos, como máquinas de corte contaminadas, seguidos por oportunidades de crescimento da bactéria (TODD; NOTERMANS, 2011).

Em 2017 na União Europeia, a ocorrência de *L. monocytogenes* foi mais elevada em pescados (6%), seguido por saladas (4,2%), produtos cárneos (1,8%), queijos (1%), frutas e legumes (0,6%) (EFSA; ECDC, 2018). A *L. monocytogenes* é considerada um problema de saúde global, sendo reconhecida como o principal agente causador da listeriose, uma infecção grave transmitida por alimentos contaminados, que embora tenha incidência baixa, apresenta altas taxas de hospitalização e mortalidade (BUCHANAN et al., 2017; MCLAUCHLIN, 1997; WHO, 2018; EFSA; ECDC, 2018).

A listeriose foi descrita como uma epidemia pela primeira vez em 1926, sendo observada em animais de laboratório (MURRAY et al., 1926). É uma doença invasiva que afeta principalmente recém-nascidos e gestantes, podendo ocorrer perda fetal, prematuridade ou infecção neonatal em 80% dos casos. Idosos e indivíduos imunocomprometidos também estão entre os principais grupos de incidência (CHARLIER et al., 2019; BUCHANAN et al., 2017;).

Os sintomas clínicos incluem febre (83%), síndrome da gripe (35%) e mais raramente diarreia (8%). A manifestação da gastroenterite também é comum, mas a doença pode resultar em complicações como sepse, meningite e morte (BERTHOLM, 2018). Um estudo realizado em hospitais na Dinamarca avaliou o tratamento com antibióticos e a mortalidade de pacientes (20 a 30%), e os fatores de risco significativos para a mortalidade 30 dias após o diagnóstico, foram sepse, estado mental alterado e tratamento inadequado (THONNINGS et al., 2016).

As causas mais graves da doença ocorrem, pois o patógeno possui virulência com capacidade de contornar barreiras fisiológicas e ciclo intracelular altamente complexo, passando por etapas como adesão, invasão das células hospedeiras, multiplicação com alta motilidade e por este motivo, disseminação intercelular para diferentes tecidos do corpo (CAMEJO et al., 2011).

Em 2011, foram registrados 1470 casos na União Europeia, com taxa de mortalidade de 12,7% (EFSA, 2018). Eventos mais recentes ocorreram em larga escala, como o surto na África do Sul entre 2017 e 2018, o maior surto de *L. monocytogenes* registrado até o momento, com cerca de 1000 casos confirmados e mais de 200 mortes (ALLAM et al., 2018).

Para impedir a listeriose, a abordagem básica é garantir a segurança do alimento, minimizando a carga microbiológica inicial ou inibindo a multiplicação dos microrganismos no alimento, através de processos de higienização eficiente e cuidados com pós-processo, como produção e armazenamento. Além desses fatores, uma medida para reduzir os riscos de proliferação do contaminante é a adição conservantes em produtos prontos para consumo (NERIN et al., 2017; YILDIRIM et al., 2018; MEJLHOLM et al., 2010).

## 2.2 *L. monocytogenes* EM PRODUTOS CÁRNEOS PRONTOS PARA CONSUMO

Produtos cárneos prontos para consumo, como salsichas, presunto cozido e salame, não necessitam de aquecimento prévio ao consumo, fator que eliminaria microrganismos. Caso estejam contaminados por patógenos, esses alimentos podem causar doenças veiculadas por alimentos (DVAs), uma das principais formas de contaminação para seres humanos (SAGOO et al., 2007; LIANOU; SOFOS, 2007).

Os alimentos prontos para consumo à base de carne estão dentre os mais associados a *L. monocytogenes*. As carnes e produtos à base de carne, peixe e produtos à base de peixe e leite e produtos lácteos, podem permitir a proliferação de *L. monocytogenes* e quando consumidos por pessoas altamente suscetíveis têm o potencial de contribuir com a doença (EFSA; BIOHAZ, 2018).

Gómez et al. (2015) analisaram 129 amostras de produtos cárneos prontos para consumo e detectaram que 17,17% das amostras estavam contaminadas por *L. monocytogenes*. Outro estudo realizado em 10 indústrias mostrou presença da bactéria em 7 delas, sendo 25% (5/20) em amostras de alimentos, 20% (6/30) em superfícies em uso e 10% (3/30) em superfícies higienizadas (HENRIQUES; GAMA; FRANQUEZA, 2017).

Em uma pesquisa sobre prevalência de *L. monocytogenes* na categoria “produtos à base de carne e pastelaria embalados” foram analisadas 220 amostras, das quais 6% apresentaram *L. monocytogenes*. Já no grupo de “produtos de carne fatiados e abertos” foram analisadas 200 amostras sendo 17% contaminadas por *L. monocytogenes* (GARRIDO; VITAS; GARCIA-JALÓN, 2009).

Segundo a OCDE- FAO (2014), a projeção de consumo de proteína animal aumentará até 2024. Por este motivo, o controle da segurança alimentar é extremamente importante. Além disso, métodos alternativos de conservação estão sendo estudados para prolongar a vida útil desses produtos reduzindo conservantes atuais como nitrito e nitrato de sódio ou potássio, de forma mais natural, atendendo a demanda do consumidor por produtos mais saudáveis (BRASIL, 2019; OCDE- FAO, 2014).

## 2.3 ÓLEOS ESSENCIAIS

Atualmente, os consumidores estão mais exigentes, preferindo alimentos naturais e evitando produtos químicos artificiais que possam prejudicar a saúde, como os antimicrobianos e conservantes nos alimentos. Consequentemente, há um crescente interesse em meios naturais como alternativa para substituir os antimicrobianos convencionais, prolongando a validade e combatendo os patógenos transmitidos por alimentos. Por isso, está cada vez mais presente o



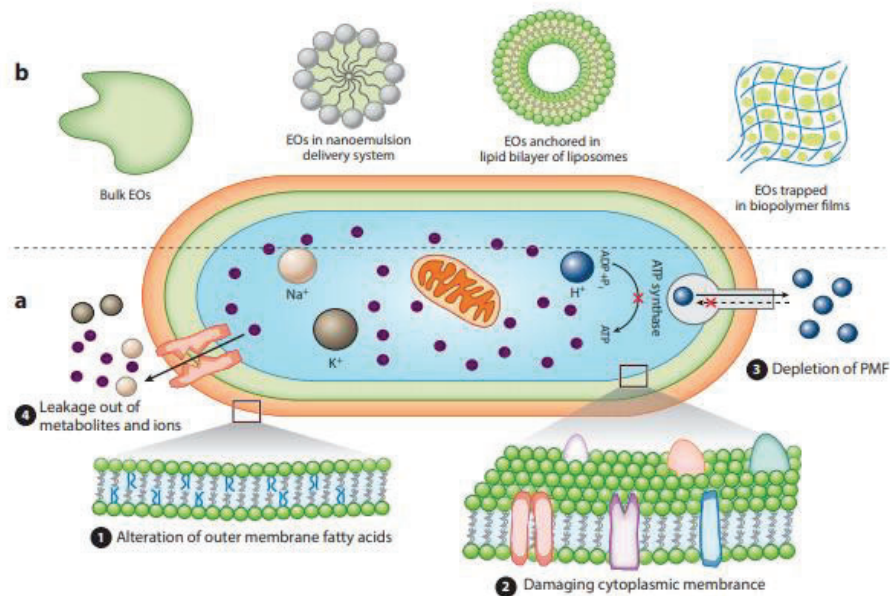
uso de compostos naturais como óleos essenciais (OE) para controle de microrganismos (CALO et al., 2015; CASTRO et al., 2017). Também, a crescente resistência de microrganismos aos antimicrobianos, requerem o desenvolvimento de novas estratégias, mais eficientes (SAKKAS; PAPADOPOULOU, 2017).

Os OE se encaixam neste contexto, pois estudos relatam a ação antimicrobiana e antioxidante dos mesmos frente à diferentes microrganismos nocivos, além de reduzir a degradação de compostos bioativos e manter a qualidade nutricional do alimento (POPOVIĆ-DJORDJEVIĆ et al., 2019; RAEISI et al., 2016; BOR et al., 2016; GUPTA et al., 2016).

Existem registros do uso de OE na aromaterapia e medicina herbal desde 4500 a.C, sendo utilizados historicamente em diversos segmentos, como tintas, aromas alimentícios, perfumes, produtos de limpeza e medicamentos (PLANTA et al., 2019). Os óleos de plantas são extremamente voláteis em condições normais, comumente encontrados nas folhas, frutas, raízes, troncos, cascas, caules e flores, sendo que sua composição e potência variam conforme a parte da planta extraída. Quimicamente, os OEs são divididos em compostos terpênicos e aromáticos, são uma combinação de hidrocarbonetos (compostos terpenos, mono, sesqui e diterpenos), álcoois, ácidos, ésteres, epóxidos, fenóis, cetonas, aminas, sulfetos e aldeídos, sendo que um óleo pode possuir de 80 a 300 hidrocarbonetos diferentes (PLANTA et al., 2019; RÍOS, 2016; ALI et al., 2015; CALO et al., 2015; BAKKALI, 2008).

Os OE são hidrofóbicos, responsáveis pelo rompimento das estruturas bacterianas, pois a parede celular de peptidoglicano das bactérias Gram-positivas permite que moléculas hidrofóbicas penetrem em seu ambiente interno e os OEs dissolvem a membrana citoplasmática dos microrganismos. Assim, a ação dos OEs tem basicamente os seguintes mecanismos: degradação da parede celular e da membrana citoplasmática, coagulação do citoplasma, difusão através da dupla camada lipídica da membrana e alteração da permeabilidade e função bacteriana (GHOSH; MUKHERJEE; CHANDRASEKARAN, 2014; NAZZARO et al., 2013). O efeito do OE nas bactérias está demonstrado na Figura 1.

Figura 1 - Efeito do óleo essencial nas bactérias



Fonte: Rao et al. (2019)

Um estudo comparativo com 28 óleos essenciais com efeito frente a *Escherichia coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium e *Staphylococcus aureus*, mostrou como mais efetivos o OE de orégano (*Origanum heracleoticum*), casca da canela (*Cinnamomum verum*), segurelha-das-montanhas (*Satureja montana*, *Thymbra capitata*) e canela-chinesa (*Corydothymus capitatus*, *Cinnamomum cassia*). Os autores observaram óleos com menor potencial contra esses microrganismos como tomilho (*Thymus vulgaris thymoliferum*, *Thymus serpyllum*, *Thymus satureioides*), cravo da Índia (*Eugenia caryophyllus*), pimenta da Jamaica (Pimenta dioica), folha da canela (*Cinnamomum verum*) e capim limão (*Cymbopogon martinii*) (OUSSALAHA et al., 2007).

Raeisi et al. (2016) realizaram um estudo comparativo entre óleos essenciais (canela e alecrim) com diferentes combinações e revestidos com alginato e tratados com nisina com atividades frente a *L. monocytogenes*, revelando a combinação de óleos de canela e alecrim com efeito antimicrobiano mais elevado.

O óleo essencial de *Hibiscus surratensis L. calyces*, por exemplo, possui efeito antibacteriano potente contra *L. monocytogenes* e em menor eficácia contra *S. aureus* e *E. coli* (ACARKA, 2019). Em 2018, um estudo realizado por Cui et al., comprovou que o óleo de cravo possui ação sobre a *L. monocytogenes* devido ao eugenol, seu principal componente que possui propriedades antifúngicas, anestésicas e antissépticas. O eugenol altera a estrutura da bactéria, causando danos irreversíveis à membrana celular, mudando seu DNA e afetando o

metabolismo respiratório por interferir nos metabólitos e enzimas-chave do ciclo do ácido tricarbóxico (TCA) (CUI et al., 2018).

Em uma pesquisa realizada com salmão foram avaliados os OE de limão, capim-limão, lima, alho, cebola, orégano, tomilho e alecrim frente a *L. monocytogenes*, onde o óleo de orégano mostrou maior atividade bactericida (PEDRÓS-GARRIDO et al., 2020). Outro estudo com 39 óleos contra *L. monocytogenes*, mostrou a ação de óleos de gardênia, cedro, louro, broto de cravo, orégano, canela, pimenta-da-jamaica, tomilho e patchouli mais efetiva (FRIEDMAN et al., 2002).

Barbosa et al. (2016) testou os óleos de orégano e alecrim em vegetais minimamente processados, sendo que o orégano mostrou efeitos inibitórios mais elevados frente a *L. monocytogenes* em comparação com o alecrim. Na avaliação de 21 óleos essenciais contra *L. monocytogenes* e *Salmonella in vitro*, verificou-se que os mais eficazes foram orégano, canela, cravo, tomilho vermelho e melaleuca. Em particular, a canela e o orégano mostraram maior atividade contra as linhagens de *L. monocytogenes* (MAZZARRINO et al., 2015).

### **2.3.1 Óleos essenciais de orégano (*Origanum vulgare L.*) e de canela (*Cinnamomum spp.*)**

O óleo essencial de orégano é um aditivo alimentar aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para uso em alimentos e bebidas, e reconhecido como geralmente seguro “GRAS” (FDA, 2018). O OE de orégano possui propriedades antioxidantes que retardam a degradação oxidativa dos lipídeos em alimentos gordurosos e eliminam radicais livres. Além disso, o OE de orégano é um dos agentes antioxidantes e antimicrobianos mais eficazes, uma ótima opção para as indústrias que necessitam de alternativas naturais para substituir os conservantes e garantir a qualidade e segurança dos alimentos (ORTEGA-RAMIREZ et al., 2016).

Esses efeitos podem ser atribuídos ao alto teor de compostos fenólicos, incluindo carvacrol,  $\gamma$ -terpineno e timol (MECHERGUIA et al., 2016). Entre as substâncias químicas do OE de orégano, o carvacrol é o principal componente e um dos mais eficazes, apresentando atividade microbiana de amplo espectro frente à microrganismos deteriorantes e patogênicos transmitidos por alimentos, como a *L. monocytogenes* (SOUZA et al., 2016; FIELD et al., 2015).

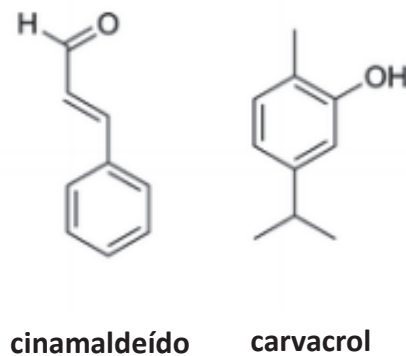
Os efeitos benéficos do carvacrol em terapias combinadas com outros fito compostos potencializam a atividade antimicrobiana, promovendo o uso de OE em concentrações mais baixas, minimizando os efeitos sensoriais adversos quando aplicados como conservantes nos alimentos (MARINELLI et al., 2018).

A canela por outro lado, é uma especiaria obtida da casca das espécies arbóreas do gênero *Cinnamomum*, pertencente à família *Lauraceae*. A presença de compostos fenólicos e voláteis no óleo essencial de canela fornece o sabor e o aroma característicos deste condimento (PHAM et al., 2019; OOI et al., 2006).

O OE de canela tem compostos importantes como cinamaldeído, acetato de cinamil, eugenol, linalol e cânfora, que apresentam atividade biológica, inibindo o crescimento microbiano (CARDOSO-UGARTE; LÓPEZ-MALO; SOSA-MORALES, 2016). O OE de canela é eficaz na preservação de alimentos e produtos derivados devido às suas propriedades atribuídas ao seu principal composto denominado cinamaldeído (NOSHIRVANI et al., 2017). O cinamaldeído apresenta cerca de 80% da composição do OE, podendo superar 90% do OE em alguns casos (SIMIONATO et al., 2019; MAZZARRINO et al., 2015). O óleo de canela tem efeito antimicrobiano de amplo espectro, com propriedades naturais e seguras, o que o tornaria ideal para utilização em vários segmentos (PAUDEL; BHARGAVA; KOTTURI, 2019).

Porém, os óleos essenciais em geral apresentam desvantagens, como alta volatilidade, insolubilidade em água e aroma intenso, gerando propriedades organolépticas desagradáveis quando aplicadas em produtos alimentícios (MERINO et al., 2019). Os principais componentes dos OE antimicrobianos são aromáticos, conforme apresentado na Figura 2:

Figura 2 - Estruturas de componentes aromáticos de OE antimicrobianos



Fonte: Marinelli et al. (2018).

Outra desvantagem dos OE seria que a atividade antioxidante das substâncias bioativas podem ser influenciadas negativamente por sua degradação, devido à luz, temperatura, oxigênio, umidade e presença de ligações não saturadas nas estruturas moleculares. Por estes motivos, a microencapsulação é uma tecnologia alternativa para melhorar o armazenamento e estabilidade dos compostos bioativos, além de proporcionar a aplicação com um avanço na

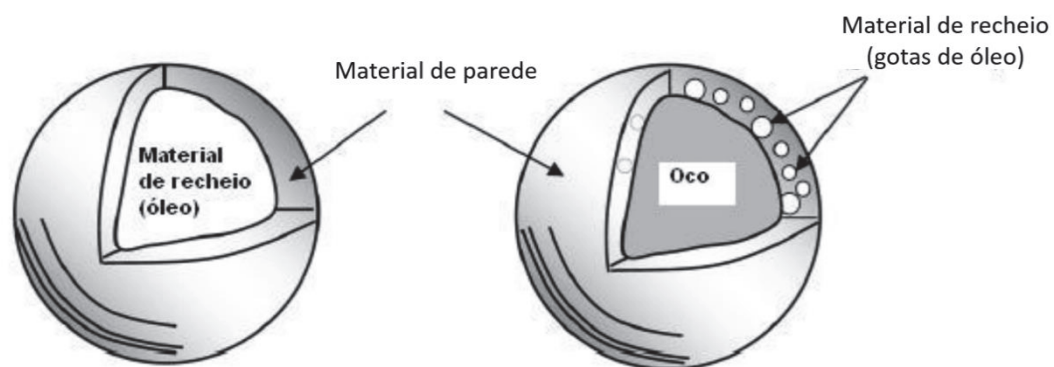
questão sensorial ao mascarar o sabor amargo e a adstringência dos polifenóis (BALLESTEROS et al., 2017).

## 2.4 MICROENCAPSULAÇÃO

A indústria de alimentos e o consumidor final buscam alternativas que estendam a vida útil dos alimentos com a manutenção do sabor e de suas características nutricionais além do controle de microrganismos patogênicos e deteriorantes. Uma das formas de controlar estes microrganismos é a aplicação de compostos naturais, como extratos de plantas e óleos essenciais. Entretanto, estes podem conferir alterações organolépticas indesejáveis nos alimentos e a microencapsulação auxilia na estabilidade do núcleo e mascara o sabor amargo dos OEs (BALLESTEROS et al., 2017).

A encapsulação foi desenvolvida para a estabilização, solubilização e liberação controlada de compostos. É um processo pela qual determinado material ou uma combinação de materiais são revestidos por outro material ou sistema. De forma simplificada, é um meio de empacotar, separar e armazenar substâncias em cápsulas microscópicas para aplicação e posterior liberação (PELLICER, 2019; GUPTA et al., 2016; SOBEL et al., 2014). O material externo é denominado agente encapsulante enquanto que o ingrediente interno é o material ativo (GUPTA et al., 2016), conforme a Figura 3.

Figura 3 - Exemplos de cápsulas

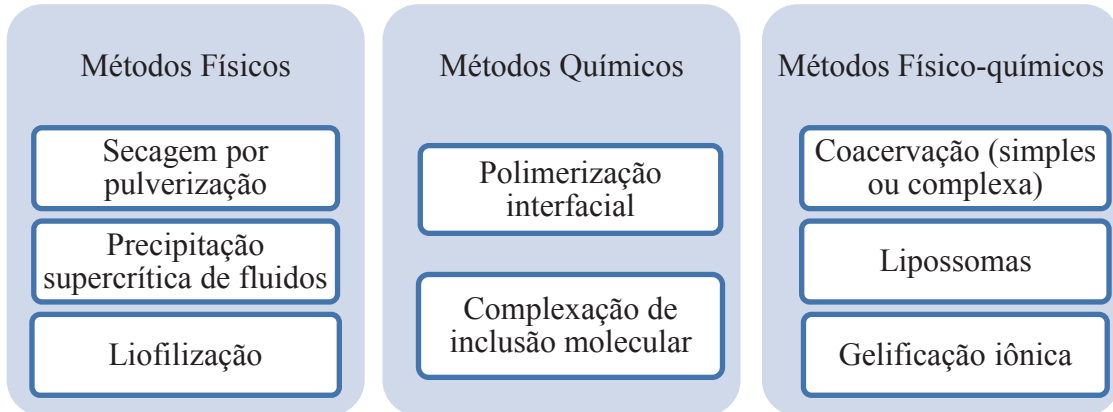


Fonte: Copiado de Jafari et al., (2008).

O estudo da microencapsulação é dividido em duas categorias, denominadas cápsulas e esferas, sendo ambas amplamente aplicadas na indústria e atendendo legislações implantadas por órgãos reguladores (SOBEL et al., 2014). Os métodos mais comuns de preparação das cápsulas são: atomização, revestimento por pulverização, co-extrusão e sistemas baseados em

emulsão. A seleção adequada do método depende do processo e dos parâmetros específicos da função da cápsula (OXLEY, 2014). Os principais métodos estão divididos em físicos, químicos e físico-químicos (Figura 4).

Figura 4 - Métodos de microencapsulação

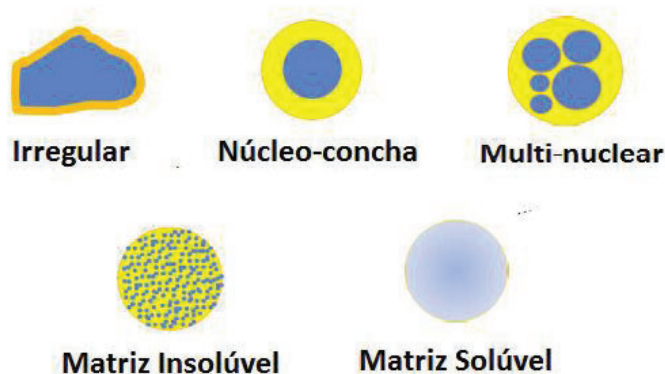


Fonte: Adaptado de Ozkan et al. (2019).

Como cada método possui vantagens e desvantagens, a seleção do processo de microencapsulação está relacionada principalmente com a função, incluindo termo sensibilidade e solubilidade dos compostos ativos (OZKAN et al., 2019). A técnica de coacervação, por exemplo, possui alta eficiência de encapsulação, redução de perdas na evaporação e degradação térmica, além de boa estabilidade no controle da liberação de materiais ativos (TANEJA; SINGH, 2012).

A morfologia da cápsula é o estudo da forma, porosidade e integridade das partículas. Fatores como materiais de parede, núcleo ativo e técnica utilizada para microencapsulação irão interferir na forma (GÓMEZ et al., 2018). A morfologia das partículas podem ser observadas na Figura 5.

Figura 5 - Morfologia das partículas



Fonte: Vasisht, (2014).

A escolha do material de parede é um fator importante, pois irá proteger o material ativo e a integridade do núcleo. Fatores externos que podem degradar o material nuclear e que, portanto, devem ser considerados em processos de microencapsulação são, quantidade de água e oxigênio, pressão de compressão, calor e luminosidade. A Tabela 1 relaciona a morfologia com a qualidade da proteção do material nuclear frente à fatores externos como oxigênio, água, pressão, calor e luz.

Tabela 1 - Morfologia relacionada com a qualidade da proteção do material nuclear frente à fatores externos

Morfologia	Fatores externos				
	Oxigênio	Água	Pressão	Calor	Luz
Irregular	Razoável	Razoável	Excelente	Boa	Excelente
Núcleo concha	Boa	Boa	Ruim	Razoável	Bom
Multinuclear	Excelente	Excelente	Razoável	Bom	Bom
Matriz insolúvel	Razoável	Razoável	Bom	Ruim	Razoável
Matriz solúvel	Ruim	Ruim	Excelente	Ruim	Ruim

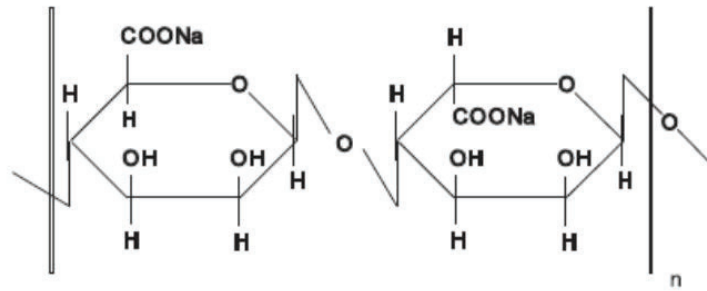
Fonte: Vasisht, (2014).

#### 2.4.1 AGENTES ENCAPSULANTES

O agente encapsulante deve ser selecionado considerando algumas características importantes, tais como: não alterar a atividade do óleo encapsulado, mecanismo de liberação e condições de secagem. O material de parede deve apresentar qualidade alimentar e alta solubilidade em água, tendo em vista que o processo é realizado utilizando formulações aquosas. O material também deve apresentar boa emulsão, sendo necessário ter baixa viscosidade (RODRÍGUEZ et al., 2016).

Dentre os agentes encapsulantes destacam-se o alginato de sódio, um polissacarídeo derivado de algas marrons como a *Laminaria hyperborea*, *Macrocystis pyrifera* e *Ascophyllum nodosum*. Esse biopolímero é composto por unidades de ácido  $\alpha$ -1,4-l-gururônico e ácido  $\beta$ -1,4-d-manurônico, disponível em diferentes graus, dependendo da pureza. Embora possa ser produzido por fontes bacterianas, está comercialmente disponível a partir de algas, na forma de sal, como o alginato de sódio (CAETANO; ALMEIDA; GONÇALVES, 2016). A Figura 6, apresenta a estrutura molecular do alginato.

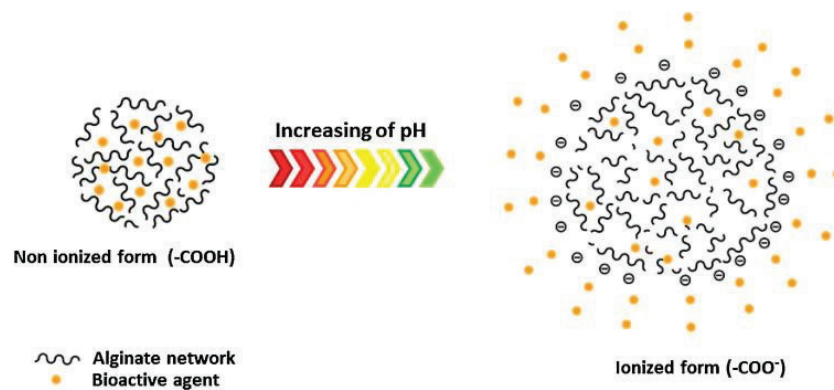
Figura 6 - Estrutura molecular do alginato



Fonte: Souza, 2009.

Possui em sua estrutura grupos carboxílicos conferindo ao polímero uma sensibilidade ao pH externo. No pH abaixo de 3,4, os grupos de ácidos carboxílicos apresentam-se na forma não ionizada (COOH), formando uma estrutura insolúvel. Para pH acima de 4,4, o grupo carboxílico torna-se ionizado (COO<sup>-</sup>), resultando em um aumento da repulsão eletrostática dessas cargas negativas, causando expansão da cadeia polimérica e inchaço da matriz hidrofílica. O material é liberado totalmente quando o pH se aproxima a 7,4, conforme Figura 7 (AGUERO et al., 2015; AGUERO et al., 2017).

Figura 7 - Ilustração esquemática da resposta ao estímulo do pH de micropartículas de alginato



Fonte: Agüero et al., 2017

A cápsula de alginato pode ser reticulada em cadeias poliméricas de maneira física ou química. Os cátions possuem importante força de reticulação do alginato, seguindo a ordem: cátions trivalentes chumbo (Pb<sup>2+</sup>), cobre (Cu<sup>2+</sup>), cádmio (Cd<sup>2+</sup>), bário (Ba<sup>2+</sup>), estrôncio (Sr<sup>2+</sup>) e cálcio (Ca<sup>2+</sup>). Embora o íon Ca<sup>2+</sup> não possua a maior força de interação, é o mais utilizado, devido a aceitabilidade do cálcio pelo organismo humano, regulando processos fisiológicos e sendo o principal componente do sistema esquelético, bem como na regulação de vários processos fisiológicos. Os cátions Sr<sup>2+</sup> e Ba<sup>2+</sup> também são considerados agentes



reticulantes, porém o uso de  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  e  $Cd^{2+}$  é limitado, devido a toxicidade (LEE; MOONEY, 2012; MOREIRA et al., 2014).

A tendência persiste na reticulação iônica, oferecendo métodos adequados para encapsulação de substâncias ativas, preservando atividade biológica para aplicação prática. Desta forma, o cloreto de cálcio é um excelente íon para fins de encapsulação (VENKATESAN et al., 2015; DIANAWATI; MISHIRA; SHAH, 2012).

#### 2.4.2 COACERVAÇÃO SIMPLES

Coacervação é um termo usado para o processo de separação de fase, induzida pela alteração do ambiente em condições controladas. A técnica pode ser definida como um sistema coloidal, envolvendo separação induzida de uma fase polimérica homogênea, por influência de fatores como pH, força iônica, temperatura e solubilidade, que forma duas fases líquidas imiscíveis. Nesse processo, uma fase é rica em colóides (fase coacervada) e outra, com poucos colóides, conhecida como fase de equilíbrio (NAIRM, 1995; XIAO et al., 2014).

A coacervação geralmente é dividida em coacervação simples e coacervação complexa. A coacervação simples envolve um tipo de macromolécula ou surfactante e pode ser induzida pela adição de álcoois e sais ou pelo aumento de temperatura (ZHAO; WANG, 2017).

A técnica é uma ótima escolha para microencapsulação, devido à eficiência de encapsulação do princípio ativo e processamento em temperatura ambiente. As cápsulas são envoltas por uma matriz, protegendo o núcleo contra danos causados por fatores externos como luz, umidade e oxidação (AUGUSTIN; SANGUANSRI; BODE 2006).

De modo geral, o processo de coacervação consiste em três etapas básicas: emulsificação, coacervação e formação e/ou endurecimento de conchas. Pode também ser definida da seguinte forma (YAN; ZHANG, 2014).

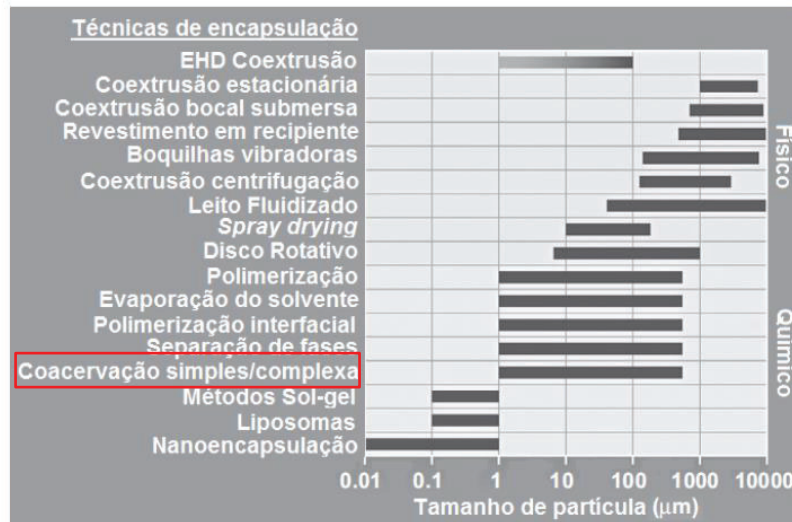
1° estágio = dispersão do agente ativo na solução polimérica;

2° estágio = separação de fases do polímero na solução aquosa, com adição de um não solvente;

3° estágio = formação de um filme com agregados poliméricos ao redor do núcleo;

Embora existam vários métodos de microencapsulação, a coacervação é a opção com maior carga útil e melhor eficiência de encapsulação, com até 99%. Apresenta ótimos resultados na encapsulação de elementos como óleos, sabores, vitaminas e pigmentos. Outros fatores importantes são sua estabilidade oxidativa, insolubilidade em água, liberação controlada com base no estresse mecânico, além da resistência ao calor. Além desses fatores, a coacervação possui uma grande faixa de variação do tamanho de partícula, conforme Figura 8.

Figura 8 - Tamanho de partícula versus método de encapsulação



Fonte: Oxley, (2014).

Uma pesquisa sobre perfil de liberação de cápsulas de óleo de hortelã-pimenta mostrou que cargas elevadas de núcleo diminuem a espessura da parede das cápsulas (DONG et al., 2011). O controle na liberação do núcleo das cápsulas de coacervação está interligado com estrutura, tamanho da partícula, carga, grau de reticulação e meio de dispersão. Também, o aumento da carga diminui a eficiência das cápsulas protegerem o núcleo e, como consequência, melhora a taxa de liberação do material do núcleo (YEO et al., 2005; BAYOMI, 1998).

Sutaphanit e Chitprasert (2014), citam a utilização da microencapsulação por coacervação simples para proteger o óleo essencial de manjeriço da oxidação, tendo gelatina como agente encapsulante. Segundo os autores, sob condições de estocagem a 60°C durante 49 dias, equivalente a 25°C por 18 meses, foram observadas pequenas diminuições na taxa de atividade antioxidante, comprovando o potencial da técnica para aplicação em outros compostos voláteis.

Solomon et al. (2012) encapsularam óleo essencial de citronela com matrizes de gelatina por coacervação simples para produzir repelente de mosquitos, com adição gradual de uma solução de sulfato de sódio e reticulação por formaldeído, indicando o método como adequado para encapsular óleo essencial além de prolongar sua ação.

Outro estudo mostrou a utilização de cápsulas com óleo essencial de capim-limão, utilizando álcool polivinílico como polímero de parede e reticulado com glutaraldeído. Os resultados demonstraram que o óleo essencial não foi degradado pelo processo de microencapsulação. Entretanto, os mecanismos responsáveis pela aglomeração das cápsulas

durante a coacervação podem reduzir a eficiência da encapsulação e influenciar as características de liberação (LEIMANN et al., 2009).

Segundo Dong et al. (2011), para que óleo essencial tenha maior tempo de ação nos produtos, a cápsula deve possuir características apropriadas para liberação controlada. Assim, a principal vantagem da coacervação simples em relação aos outros métodos é a capacidade de encapsulação e utilização na liberação controlada (LEIMANN et al., 2009).

### **3 MICROENCAPSULAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE ORÉGANO E CANELA COMBINADOS COM AÇÃO SOBRE *Listeria monocytogenes* EM PRODUTO CÁRNEO.**

#### **3.1 INTRODUÇÃO**

Os produtos de origem animal prontos para consumo, como presuntos, salames e queijos fatiados são apreciados pelos consumidores devido à sua praticidade e fácil aquisição. No entanto, esses produtos também são associados à *L. monocytogenes*, um importante patógeno causador de doenças veiculadas por alimentos (DVAs). Esses alimentos possuem condições favoráveis para a proliferação da bactéria, que suporta altas concentrações de sal, temperaturas de refrigeração e embalagens a vácuo, agravando as possibilidades de contaminação já que estes produtos não necessitam de cocção prévia ao consumo (EFSA; BIOHAZ, 2018; SAGOO et al., 2007; LIANOU; SOFOS, 2007).

A ingestão de alimentos contaminados por *L. monocytogenes* pode gerar febre, gripe, diarreia e gastroenterites, além de complicações como sepse e meningite, apresentando altas taxas de mortalidade (EFSA, 2018; EFSA; BIOHAZ, 2018). Para evitar ou diminuir a contaminação dos alimentos são utilizados conservantes, que além da possibilidade de toxicidade para os consumidores podem induzir a resistência bacteriana (SAKKAS; PAPADOPOULOU, 2017). Assim, a necessidade de alternativas a estes conservantes tem levado pesquisadores e indústria a buscar opções mais saudáveis e naturais (CALO et al., 2015; CASTRO et al., 2017) com ação sobre bactérias tanto patogênicas como deteriorantes, sendo o uso de óleos essenciais uma alternativa promissora.

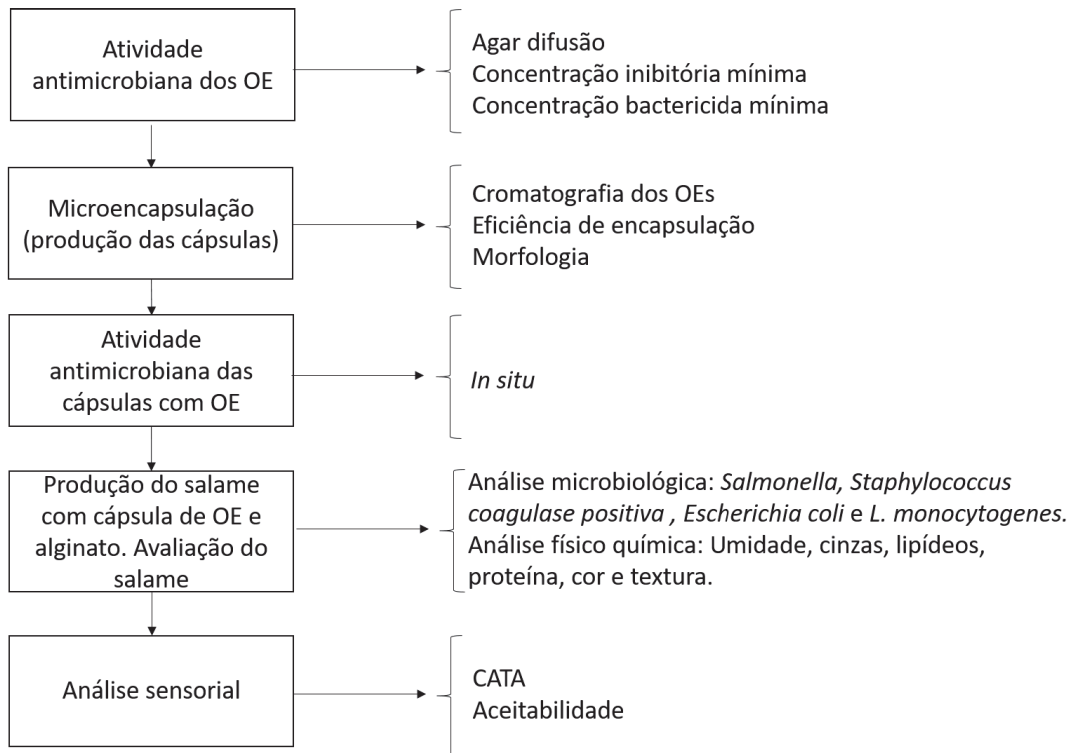
Os óleos essenciais (OEs) são metabólitos secundários das plantas com atividade antioxidante e antimicrobiana (POPOVIĆ-DJORDJEVIĆ et al., 2019; RAEISI et al., 2016) mas apresentam algumas desvantagens como aroma pronunciado e elevada volatilidade, reduzindo sua ação durante o processamento por serem instáveis a alterações de luz, temperatura, pH e oxigênio (GUPTA et al., 2016; ZAKHAROVA et al., 2016). Ainda, podem alterar as características sensoriais quando adicionados em alimentos, necessitando estudos sobre aceitação do consumidor (MERINO et al., 2019). Os OEs de canela e orégano são antimicrobianos eficazes, pois possuem como principais compostos o cinamaldeído e carvacrol, respectivamente (SOUZA et al., 2016; FIELD et al., 2015, PHAM et al., 2019).

Uma das formas de proteger os OEs da degradação e volatilização é a encapsulação, pois os materiais das cápsulas protegem os OEs de fatores ambientais, melhorando sua estabilidade e funcionalidade e controlando sua liberação com redução da atividade bacteriana e reações oxidativas, e conseqüentemente ampliação da vida útil do produto (KAUSHIK et al., 2015; SANGUANSRI; AUGUSTIN, 2006). Desta forma, o objetivo foi avaliar a ação *anti-Listeria* de OE de orégano e canela, isolados, combinados e microencapsulados, bem como sua aceitação sensorial em salame tipo Italiano.

### 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O resumo dos métodos encontra-se na Figura 9 conforme a ordem de execução do experimento.

Figura 9 - Resumo da aplicação da metodologia.



#### 3.2.1 Materiais

Os óleos essenciais de canela (*Cinnamomum cassia*) e orégano (*Origanum vulgare*) foram adquiridos de fornecedor comercial (Oshadhi®, Brasil) e uma cepa ATCC7644 de *L. monocytogenes* foi utilizada nos ensaios microbiológicos.

### 3.2.2 Composição dos óleos essenciais

A composição química dos OEs de canela e orégano simples e combinados (50:50, v/v), foram determinadas em cromatógrafo gasoso (GCMS-TQ 8030, Shimadzu, Japão) operando no modo EI (equipado com uma coluna capilar RTX-5MS® (30 m x 0,25 mmID x 0,25 µm de espessura de filme) seguindo a metodologia de Kakaei e Shahbazi (2016). Hélio foi usado como gás de arraste a uma taxa de fluxo de 1,0 mL/min e programa de temperatura do forno de 2 min a 50 °C, elevando-se gradualmente até 150 °C a uma taxa de 4°C min<sup>-1</sup>, mantendo-se até 52 min e novo aumento até 280 °C a uma taxa de 4°C min<sup>-1</sup>, mantendo-se esta temperatura por 2 min, com energia de ionização de elétrons (EI) de 70 e VT a 280 °C e interface a 280 °C. O espectrômetro de massas operou no modo SCAN de 35 a 600 m/z. O volume injetado foi de 1 µL (proporção de divisão de 1:60). Os compostos do OE foram identificados comparando-se seus tempos de retenção (RT) e espectro de massa com padrão de fragmentação espectral de massa padrão do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (NIST).

### 3.2.3 Atividade *anti-Listeria* dos OEs

A atividade *anti-Listeria* dos OEs foi avaliada com os seguintes tratamentos: T1: 100% orégano; T2: 100% canela; T3: 80% orégano/20% canela; T4: 50% orégano/50% canela; T5: 20%/80% canela.

#### 3.2.3.1 Agar difusão

Uma suspensão bacteriana equivalente à 0,5 da escala Mac Farland foi distribuída em placas de Mueller Hinton e, após 5 min, inoculou-se 80 µL dos OE nas concentrações de 0,5%, 1%, 2%, 5% e 10% dos tratamentos T1 até T5 em poços de 6 mm, tendo Dimetilsulfóxido (DMSO) como controle negativo e álcool 70% como controle positivo. As placas foram incubadas a 37 ± 1 °C por 24/48 h e o diâmetro da zona de inibição mensurado em milímetros.

#### 3.2.3.2 Concentração inibitória mínima (CIM)

Em uma placa de titulação de 96 poços depositou-se 100 µL da combinação 90 µL de BHI e 10 µL de DMSO em cada poço e, na sequência, 100 µL de cada tratamento (T1 até T5), realizando-se diluições seriadas de 1:1 até 1:128. Na sequência adicionou-se 30 µL da suspensão de *L. monocytogenes* (0,5 da escala Mac Farland), utilizando-se caldo BHI com DMSO como controle negativo e álcool 70% como controle positivo. As placas foram incubadas à 37 ± 1 °C e a leitura realizada após 24/48 h. Aliquotas de 10 µL dos poços sem turvação foram transferidos para placas de Palcam e incubadas a 37 ± 1 °C por 24/48 h,

registrando-se a menor concentração sem evidência de multiplicação bacteriana após este período.

### 3.2.3.3 Ação anti-*Listeria* das cápsulas contendo OEs em matriz cárnea

Para determinar a atividade *anti-Listeria* dos OEs de canela e orégano microencapsulados em matriz cárnea foram utilizadas formulações semelhantes ao salame tipo Italiano. Para tanto, alíquotas de 30 g de carne suína moída adicionada de 3% de sal, 3% de água, 0,6% de açúcar e 0,08% de pimenta preta foram expostas a radiação UV em placas de Petri abertas, 15 min em cada lado. A avaliação *in situ* foi realizada com a adição das seguintes concentrações de cápsulas: T1:0%; T2:1,5%; T3:2%; T4:2,5% e T5:3% e 100 µL de *L. monocytogenes* 10<sup>-4</sup>. Para quantificação de *L. monocytogenes* adicionada aos tratamentos coloca-se o conteúdo da amostra controle (T1) em saqueta estéril e acrescentou-se 30 mL de APT 1%, agitando-se a 300 rpm por 2 min. Deste conteúdo semeou-se 200 µL por espalhamento em Agar Aloa e incubou-se as placas a 37 ± 1 °C por 24/48 h, realizando a contagem das UFCs. Os demais tratamentos foram incubados a 7 ± 1 °C em BOD e após 7 dias realizou-se o mesmo procedimento do T1, mas semeando-se 100 µL diretamente do conteúdo das saquetas e das diluições seriadas (10<sup>-1</sup> até 10<sup>-4</sup>) em Agar Aloa, incubando-se as placas a 37 ± 1 °C por 24/48 h e contagem das UFC. Os ensaios foram realizados em triplicata.

### 3.2.4 Elaboração das cápsulas de OE

As cápsulas foram produzidas por coacervação simples (Solomon et al., 2012; Raeisi et al., 2016). Uma solução de alginato de sódio a 2% foi preparada com agitação constante de 700 rpm à 60 °C por 2 h, arrefecido a 50 °C. Em seguida foi adicionado ácido cítrico até atingir o pH 3,5 a 4,0. Após, adicionou-se os OEs puros na proporção 50:50 (óleo essencial de canela/óleo essencial de orégano) na concentração de 2% (v/v; óleo/solução), com agitação constante por 10 min e resfriamento até 10 °C. As cápsulas foram atomizadas por *spray dryer* com bico de aspersão número 2, pressão 15 e velocidade de vazão em 0.3 L/h em uma solução de cloreto de cálcio (3%, p/v) para reticulação, usada em volume 5 vezes maior que a solução de encapsulação. As cápsulas foram filtradas com auxílio de bomba a vácuo e liofilizadas.

### 3.2.5 Eficiência de encapsulação (EE)

A eficiência da encapsulação foi determinada pela avaliação do óleo não encapsulado (Bannikova et al., 2018). O óleo essencial não encapsulado foi removido por lavagem com hexano da superfície da solução de cloreto de cálcio, da superfície das cápsulas úmidas e dos

utensílios utilizados. A absorvância do líquido contendo o óleo e hexano foi medida em espectrofotômetro a 279 nm (BioSpectrometer Kinetic, Eppendorf, Inglaterra). O conteúdo de óleo na fração hexano foi determinada por curva padrão preparada pela diluição do OE em hexano em diferentes concentrações. A quantidade de óleo nas amostras foi determinada pela equação  $y: 5,6599X - 0,0046$ ,  $R^2: 0,9981$ . A diferença entre a quantidade teórica de óleo usado (A) e o óleo não encapsulado (B) foi utilizado para calcular a EE, conforme equação (1)

$$EE (\%) = \frac{(A-B)}{A} * 100 \quad (1)$$

### 3.2.6 Morfologia

A análise morfológica da cápsula vazia e com OE foi avaliada em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV Vega LM3, Tescan, República Tcheca). As amostras foram dispersas em *stub* com fita dupla face de carbono e metalizadas (Q150 R ES, Quorum, País) com uma fina camada de ouro de 10 microm de espessura. As imagens foram obtidas a 10 kV, com ampliações de 100x, 250x e 1500x.

### 3.2.7 Formulação de salames tipo Italiano

A elaboração dos salames seguiu o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salame Tipo Italiano (Brasil, 2001). Os salames foram preparados com carne suína (80%), toucinho (16%), condimento pronto para salame (1,2%), sal (1,2%), pimenta preta (0,08%) e vinho tinto (0,4%). Os tratamentos foram: controle, sem adição de cápsulas (C); adicionado de 2% de cápsulas de alginato (TA); adicionado de 2% de cápsulas de OE (TOE). Os salames foram embutidos em envoltórios naturais, defumados por 24 h e dessecados a temperatura ambiente por 7 dias.

### 3.2.8 Análises microbiológicas e físico químicas dos salames tipo Italiano

Previamente à análise sensorial os salames foram submetidos a contagem de *Salmonella* e *L. monocytogenes* e de *Staphylococcus* coagulase positiva e *Escherichia coli* (Brasil, 2019). As análises físico-químicas foram umidade, cinzas, lipídeos e proteína (Adolfo Lutz, 2008), além da cor, Atividade Água ( $a_w$ ) e textura.

Os parâmetros de cor foram determinados com Espectrofotômetro de Reflectância Difusa (ColorQuest II, Hunter Lab, EUA), com sensor ótico geométrico de esfera, calibrado com cerâmica. Para leitura foi determinado iluminante D65 e ângulo de 2°. A  $a_w$  foi medida



diretamente em higrômetro (modelo 650, TEXTO, Brasil) à temperatura constante de  $23,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$  e os valores expressos de 0 a 1. A firmeza dos salames foi determinada em texturômetro (TAXT.plus, Stable Micro Systems, Inglaterra) com *probe* guilhotina em formato “V” Warner-Bratzler. As amostras foram cortadas com 20 mm de espessura, 20 mm de altura e 20 mm de largura, e cisalhadas a uma velocidade de  $1 \text{ mm s}^{-1}$ .

A luminosidade ( $L^*$ ) indica a quantidade de luz de uma determinada cor que é refletida, 0 indica a coloração preta e 100 indica a coloração branca. Quanto maior o parâmetro de  $a^*$ , mais vermelho é a amostra. E o parâmetro  $b^*$ , quando negativo indica coloração azul e quando positivo, indica a coloração em direção ao amarelo.

### 3.2.9 Análise sensorial

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade de Passo Fundo (número 4.023.587). Após assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), 114 painelistas não treinados (73 mulheres e 41 homens) foram recrutados aleatoriamente. As amostras dos tratamentos (C, TA e TOE) foram cortadas em fragmentos com aproximadamente 0,3 cm de largura e servidas individualmente em recipientes descartáveis codificados com números aleatórios de três dígitos. O teste de aceitabilidade foi apresentado de forma monádica, usando luz LED branca e uma escala hedônica de 1 a 9 em relação aos atributos cor, sabor, textura e aspecto global. O índice de aceitabilidade foi calculado em porcentagem pela média geral de aceitação / 9 \* 100.

Na sequência, os participantes responderam o questionário CATA (*Check-All-That-Apply*) composto por 23 termos descritivos baseados nos atributos aparência, textura, cor, odor e sabor, apresentados em ordens diferentes para cada amostra e participante. Os consumidores foram instruídos a marcar todos os atributos que considerassem adequados para descrever cada amostra. Os atributos foram baseados no estudo realizado por Scheid, 2001 e adaptados ao presente estudo.

### 3.2.10 Análise estatística

A análise dos ensaios microbiológicos foi realizada por ANOVA e as médias comparadas através do teste de Tukey com intervalo de confiança de 95%. Para a metodologia CATA foi aplicada a análise estatística multivariada utilizando o programa *Statistic 7.0*.

### 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.3.1 Atividade *anti-Listeria* dos OE

Todos os ensaios realizados em Agar Difusão mostraram ação sobre *L. monocytogenes* nas diferentes concentrações dos tratamentos (T1: 100% orégano; T2: 100% canela; T3: 80% orégano/20% canela; T4: 50% orégano/50% canela; T5: 20% orégano/80% canela), sendo que os tratamentos com 2%, 5% e 10% apresentaram halos de inibição entre 20-38mm e os tratamentos com 0,5% e 1% entre 08- 20mm. Neste estudo, convencionou-se que a formação de halo de inibição, independentemente de sua dimensão, configuraria ação *anti- Listeria*, optando-se pelas menores concentrações com ação reconhecida para os demais ensaios frente a bactéria.

Dados de literatura geralmente apresentam halos de inibição dos OEs em torno de 22 mm a 56 mm (BARBOSA et al., 2021, AMOR et al., 2019; SANTOS et al., 2019) conforme a diluição utilizada e a bactéria avaliada. Entretanto, há necessidade de se confirmar a ação destes OEs em amostras de alimentos (ensaios *in situ*) bem como ensaios de concentração inibitória mínima (CIM), já que a ação dos mesmos é influenciada pela matriz analisada (GONÇALVES et al., 2017).

Rosa et al. (2020) testaram nanocápsulas de zeína (proteína do milho) carregadas com OE de orégano e de tomilho, isolados, em Agar Difusão frente a *L. monocytogenes* e *S. aureus* (Gram +) e *S. Typhimurium* e *E. coli* (Gram -), demonstrando 2–4 mm de halo de inibição para as bactérias Gram positivas e 1 mm para as Gram negativas. Após, aplicaram estas mesmas nanocápsulas em pães, mas avaliando somente bolores e leveduras, com 21 dias sem a presença de colônias.

Castro et al. (2017b) testaram diferentes concentrações de OEs de orégano e de cravo encapsulados com  $\beta$ -ciclodextrina e não encapsulados frente *L. monocytogenes* e *E. coli* por Agar Difusão, mostrando halo de inibição de 6-7,3mm frente a *L. monocytogenes* com OE de orégano livre e 2-5,67mm com OE de orégano encapsulado.

No presente trabalho selecionou-se para os ensaios de CIM a concentração de 5% do tratamento T4 (50% orégano/50% canela), por ter formado halo de inibição equivalente as concentrações de 2 e 10% e por considerar que esta diluição teria maior ação nos ensaios com matriz cárnea e microencapsulação. Os resultados da CIM mostraram que as concentrações de 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625% e 0,3% (diluições de 1:1 ao 1:16) de todos os tratamentos apresentaram inibição de *L. monocytogenes*, confirmada após inoculação em placas de Agar Palcam.

A partir dos resultados de Agar Difusão e CIM selecionou-se o tratamento T4 nas concentrações de 1.5, 2, 2.5 e 3% de cápsulas para os ensaios em matriz cárnea por este tratamento apresentar atividade *anti-Listeria* equivalente aos demais e atenuar as características aromáticas intensas da canela e o sabor acentuado do orégano, devido à redução de cada OE.

### 3.3.2 Composição dos Óleos Essenciais (OEs)

Os principais compostos dos OEs de orégano, de canela e da combinação de ambos (50:50 v/v) estão apresentados na Tabela 1. O carvacrol (91.1%) foi o principal componente do OE de orégano e o cinamaldeído (85.55%) da canela. Já a combinação de 50:50 de ambos resultou em 43,16% de carvacrol e 46,09% de cinamaldeído.

Tabela 2 - Componentes majoritários dos OEs de canela, de orégano e combinação de ambos (50:50 v/v).

Componentes	Óleos essenciais		
	Canela (%)	Orégano (%)	Combinados (%)
Carvacrol	-	91,1	43,16
P- cymene	-	3,21	2,14
Cariofileno	-	2,99	1,13
Terpinene	-	0,93	0,31
Cinamaldeído	85,55	-	46,09
2-propenal	8,52	-	4,34
Ácido acrílico	3,47	-	1,90
Benzaldeído	0,88	-	0,56

O carvacrol é um dos componentes mais eficazes frente à microrganismos deteriorantes e patogênicos transmitidos por alimentos, como *L. monocytogenes* (SOUZA et al., 2016; FIELD et al., 2015, PHAM et al., 2019) e, além deste, outros compostos fenólicos como os terpinenos são antimicrobianos (MECHERGUIA et al., 2016). No estudo de Chuang et al. (2020), aplicaram óleo essencial de carvacrol em carne de frango moída para inativar *Salmonella* e *L. monocytogenes*, os resultados mostraram que a *L. monocytogenes* é mais sensível a esse estressor, sendo reduzido a níveis abaixo do limite detectável durante armazenamento de 4°C e 10°C, após o tratamento com carvacrol. A propriedade antibacteriana do OE é associada à capacidade dos componentes penetrarem e destruírem a membrana

citoplasmática, inibindo o desenvolvimento da bactéria (GHOSH; MUKHERJEE; CHANDRASEKARAN, 2014).

O cinamaldeído exibe alta concentração no OE de canela, podendo superar 90% da composição (SIMIONATO et al., 2019; MAZZARRINO et al., 2015) com reconhecida ação antimicrobiana (CARDOSO-UGARTE; LÓPEZ-MALO; SOSA-MORALES, 2016). O cinamaldeído inibe a divisão celular e interfere no perfil lipídico, levando a morte celular (SILVA et al., 2018; FRIEDMAN, 2017). A ação antimicrobiana dos OEs também é alterada conforme a composição química dos mesmos, espécies de plantas, método de extração e condições ambientais (SHAHBAZI et al., 2016)

A combinação dos OEs de orégano e canela almejava ampliar a ação de ambos ao combinar seus princípios ativos bem como reduzir o impacto sensorial do OE de canela quando aplicado em produtos cárneos, um dos objetivos deste trabalho. No entanto, a combinação destes manteve 43,16% de carvacrol e 46,09% de carvacrol, o que poderia representar diminuição da ação sobre *L. monocytogenes*, mas não se confirmou nos ensaios de Agar Difusão e/ou MIC, já que não houve diferença entre os tratamentos com OEs utilizados separados e em combinação. Assim, optou-se pela utilização da combinação dos mesmos nos ensaios em matriz cárnea e na avaliação sensorial.

### 3.3.3 Eficiência de encapsulação

A eficiência de encapsulação (EE) da combinação dos OEs de canela e orégano por coacervação simples foi de 98,36%. A técnica de encapsulação influencia na eficiência de encapsulação e a coacervação é conhecida pela sua alta EE, redução de perdas na evaporação e degradação térmica, além de boa estabilidade no controle da liberação de materiais ativos (SILVA et al., 2018B; TANEJA; SINGH, 2012). Embora existam vários métodos de microencapsulação, a coacervação apresenta maior carga útil, com EE até 99% e ótimos resultados na encapsulação de óleos, aromas, vitaminas e pigmentos. Outros fatores importantes são sua estabilidade oxidativa, insolubilidade em água e desempenho na liberação controlada dos princípios ativos (YAN; ZHANG, 2014; TIMILSENA et al., 2019; DONG et al., 2011).

Sutaphanit e Chitprasert (2014) utilizaram a coacervação simples para proteger OE de manjeriço tendo gelatina como agente encapsulante e obtiveram 95,41% de EE, já Solomon et al. (2012), ao utilizarem o mesmo método e material de parede do estudo anterior para microencapsular OE de citronela demonstraram EE de 60%, verificando que, além do método, o material de parede é um fator importante para o aprisionamento do núcleo (RADÜNZ et al., 2020).

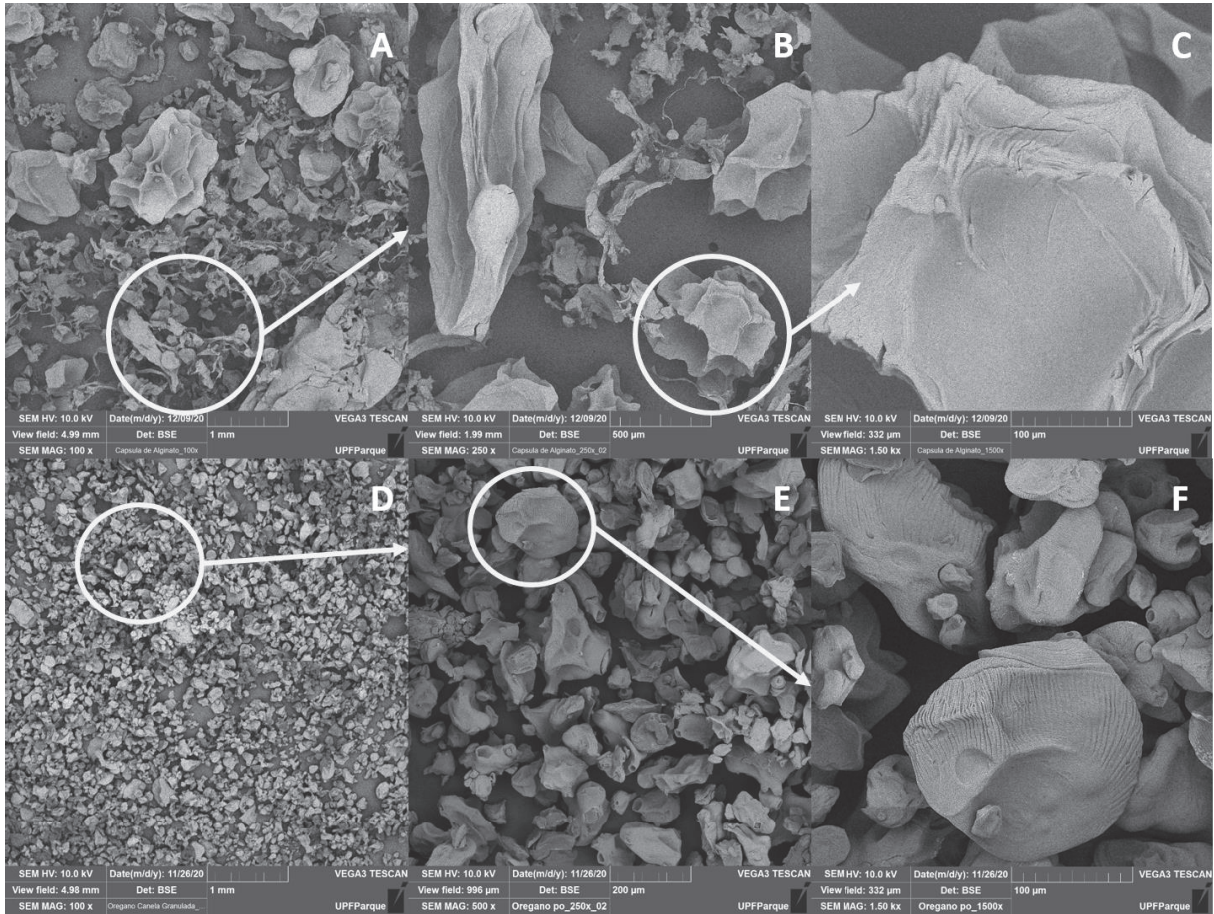
O alginato utilizado como parede, é um sal de sódio de ácido algínico e polímero natural solúvel em água, biodegradável e versátil no uso, o que o torna um biopolímero apropriado para encapsulação devido sua capacidade de formar gel estável em meio aquoso (CARDOSO; COSTA; MANO, 2016). Muito utilizado na aplicação de microencapsulação e incorporação, como na pesquisa de Pavli et al. (2019), que aplicou OEs de orégano incorporado em filmes comestível de alginato de sódio para controlar a deterioração e crescimento de *L. monocytogenes* em fatias de presunto, obtendo redução de 2,5 log a 4 °C ao final do período de armazenamento.

### 3.3.4 Morfologia das cápsulas

As cápsulas de alginato de sódio sem adição de OE, formaram estruturas desordenadas e distribuição assimétrica além de revestimento irregular com menor homogeneidade e depressões bem acentuadas (Figura 10 A, B, C). As cápsulas sem núcleo apresentam características amorfas, rugosas e superfícies quebradas que podem estar vinculadas ao efeito do estresse causado na moldagem das partículas e secagem. A identificação dessa estrutura é importante uma vez que a morfologia interfere nas propriedades físico-química como dispersão do material encapsulado (ÇAM et al., 2014).

As cápsulas com OEs (Figura 10 D, E, F) apresentaram morfologia irregular, mas diferente da cápsula sem adição de OE, as esferas apresentam assimetria e algumas superfícies achatadas, mas sem superfícies quebradas. As depressões indicadas no círculo (Figura 9E) são características da liofilização, isso ocorre devido a remoção da água das cápsulas e enfraquecimento de sua estrutura (ALVES et al., 2017). A técnica de secagem, o material de revestimento e a proporção de núcleo e parede também alteram a morfologia da superfície (HAMID et al., 2020). A morfologia apresentada pelas cápsulas de OE não interferiu na eficiência de encapsulação.

Figura 10 - Morfologia da cápsula de alginato (A, B e C) e cápsula de alginato com OEs de canela e orégano (50:50, v/v (D, E e F)

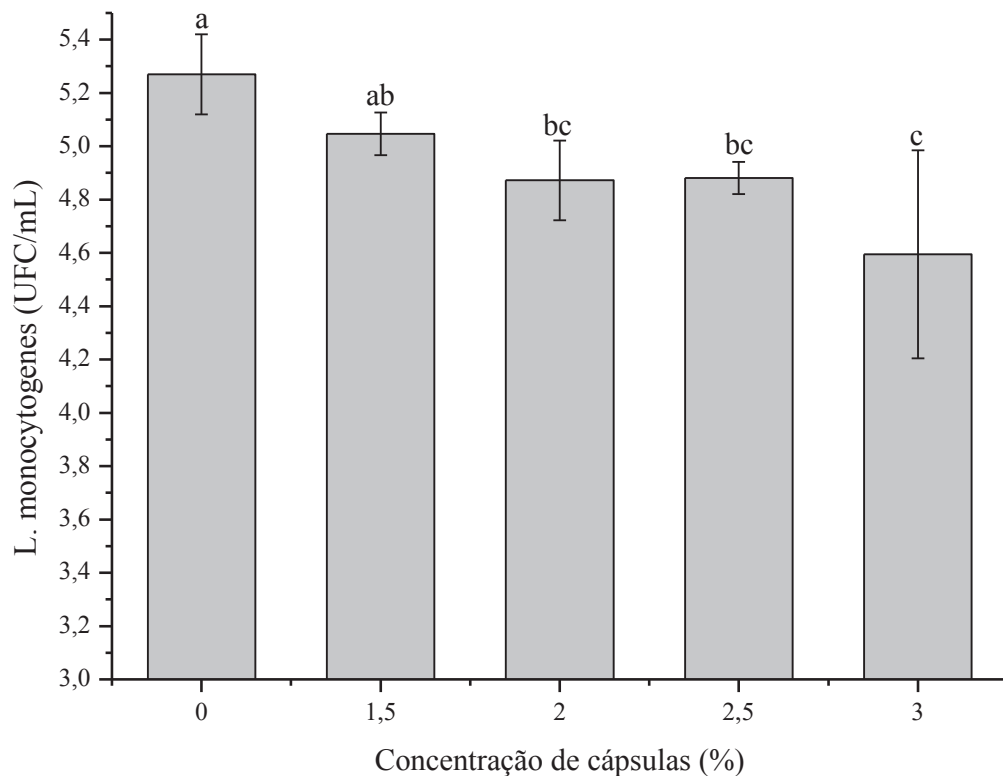


As imagens foram obtidas a 10 kV, com ampliações de 100x (A, D), 250x (B, E) e 1500x (C, F).

### 3.3.5 Ação *anti-Listeria* dos OEs sobre matriz cárnea

A figura 11 mostra os resultados da aplicação de diferentes concentrações de cápsulas com OE em matriz cárnea, observando-se redução das contagens de *L. monocytogenes* em comparação ao grupo controle (sem adição de cápsulas) a partir da concentração de 2% ( $p < 0,05$ ).

Figura 11 - Resultados em Log UFC/mL dos tratamento usados na in situ.



Média baseada em triplicatas. Letras minúsculas diferentes diferem estatisticamente umas das outras pelo teste de Tukey com 5% de significância.

As cápsulas apresentaram inibição de 60,2% em relação ao controle quando adicionado 2% de cápsula com OEs, observou-se que o aumento da concentração de cápsula incorporada à matriz cárnea aumenta a ação frente a *L. monocytogenes* ( $p < 0,00001$ ), chegando a 78,6% de inibição com 3% de cápsula, assim como Carvalho et al. (2019), que citam maior ação antimicrobiana conforme o aumento da disposição do OE na matriz alimentar. Bukvicki et al. (2014), aplicaram 0,16–20 mg/mL de OE puro e livre de *Satureja horvatii* em carne de porco picada, pasteurizada a 70°C por 20 min e armazenada a 4 °C, obtendo 93,45 a 96,62% de inibição com as concentrações de 0,67 a 5 mg/mL. Entretanto, nenhuma inibição foi registrada nas concentrações entre 0,16 e 0,32 mg/mL. Em nosso trabalho observamos inibição de *L. monocytogenes* a partir de 0,3% (3 mg/mL) na CIM, mas a aplicação em matriz cárnea requer porcentagens maiores para atingir o mesmo efeito. Isso provavelmente ocorre devido a interação entre os compostos dos OEs e as proteínas e lipídeos da matriz alimentar, além da interferência das condições ambientais, temperatura e pH (GONÇALVES et al., 2017).

Raeisi et al. (2016), testaram um revestimento ativo de alginato de sódio incorporado com nisina, canela e alecrim, adicionados individualmente e em combinação frente a *L.*

*monocytogenes* em CIM e em carne moída, utilizando 5% e 10% de OE de cravo e 2,5% e 5,0% de OE de canela, sendo observado que o OE de cravo inibiu a bactéria (3,5–4,0 log UFC/g) na amostra tratada com 5% de canela após 60 dias sob refrigeração em 0°C, 7 dias a 8 °C e congelamento -18 °C.

A combinação de OEs de manjerição e orégano com concentração de 0,3%, 1,0% e 1,5% v/p foi efetiva na redução de *L. monocytogenes* em linguças de frango frescas (BARBOSA et al., 2015). Marwan et al. (2018) aplicaram OEs de orégano e de alecrim para controlar a multiplicação de *Salmonella enterica*, *L. monocytogenes* e *E. coli* em carne de frango crua, armazenada sob diferentes temperaturas e obtiveram uma redução significativa com o uso sinérgico dos OEs. Esses resultados mostram que existe uma concentração mínima para reduzir cada bactéria, mas o desafio é aplicar uma quantidade antibacteriana efetiva e com aceitabilidade nos alimentos.

A concentração de 2% de cápsulas do T4 foi selecionada para aplicação nos salames formulados para a análise sensorial por ser a menor concentração com diferença significativa na redução das contagens de *L. monocytogenes* em relação ao controle (sem adição de OEs).

### 3.3.6 Análises microbiológicas e físico químicas dos salames tipo Italiano

Os ensaios para pesquisa de *Salmonella* e *L. monocytogenes* e contagem de *S. aureus coagulase positiva* e *E. coli* nos salames formulados atenderam a legislação vigente no Brasil (Brasil, 2019). Além disso, não houve diferença significativa na composição físico química das amostras (Tabela 3)

Tabela 3 - Composição físico-química das formulações de salame tipo Italiano controle C, com 2% de cápsulas vazias (TA) e com 2% de óleo essencial encapsulado (TOE).

Parâmetro	C	TA	TOE
Lipídeo	3,85 <sup>a</sup> ±0,2	3,74 <sup>a</sup> ±0,1	3,76 <sup>a</sup> ±0,05
Cinzas	2,92 <sup>a</sup> ±0,02	2,88 <sup>a</sup> ±0,1	2,96 <sup>a</sup> ±0,05
Umidade	1,68 <sup>a</sup> ±0,3	1,58 <sup>a</sup> ±0,1	1,63 <sup>a</sup> ±0,001
Proteínas	22,89 <sup>a</sup> ±4,0	20,93 <sup>a</sup> ±3,1	15,98 <sup>a</sup> ±2,0
Atividade de água	0,86 <sup>a</sup> ±0,003	0,87 <sup>a</sup> ±0,002	0,87 <sup>a</sup> ±0,001

\*Resultados Média±Desvio padrão. Nos resultados valores seguidos de letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).



Não houve diferença significativa na luminosidade (Tabela 4) entre as amostras. O escurecimento ou clareamento da carne está relacionado à oxidação lipídica e interação entre nitrito e compostos de OE (OLIVEIRA, et al., 2012).

Tabela 4 - Parâmetros de cor e textura das formulações de salame tipo italiano controle C, com 2% de cápsulas vazias (TA) e com 2% de óleo essencial encapsulado (TOE).

Tratamentos	L*	a*	b*	Textura
C	48,70 <sup>a</sup> ±0,7	16,48 <sup>a</sup> ±0,6	13,25 <sup>a</sup> ±0,6	1010,99 <sup>a</sup> ±164,69
TA	53,06 <sup>a</sup> ±1,2	13,94 <sup>b</sup> ±0,8	14,04 <sup>a</sup> ±0,9	1281,81 <sup>a</sup> ±115,97
TOE	53,19 <sup>a</sup> ±1,1	14,45 <sup>b</sup> ±0,4	14,23 <sup>a</sup> ±0,8	1217,26 <sup>a</sup> ±180,29

Resultados Média±Desvio padrão. Valores seguidos de letras iguais na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

A amostra controle apresentou coloração mais avermelhada com diferença significativa entre as amostras (Tabela 4, Figura 12). A cor vermelho-rósea brilhante é típica dos produtos cárneos, devido ao pigmento nitrosomioglobina, mas a coloração escura é indesejável nesse produto (BACUS, 1984), pois altera o aspecto geral e pode influenciar na percepção sensorial do consumidor. Na Figura 12, podemos observar visualmente que a amostra C está mais vermelha, o que comprova a diferença estatística entre os tratamentos.

As amostras avaliadas não mostraram diferença significativa referentes a textura das formulações. A textura é uma propriedade chave do produto e muitos fatores podem influenciar a textura como a proporção de gordura e sal, onde o aumento proporciona dureza e redução da elasticidade e coesão (DREHER et al, 2021).

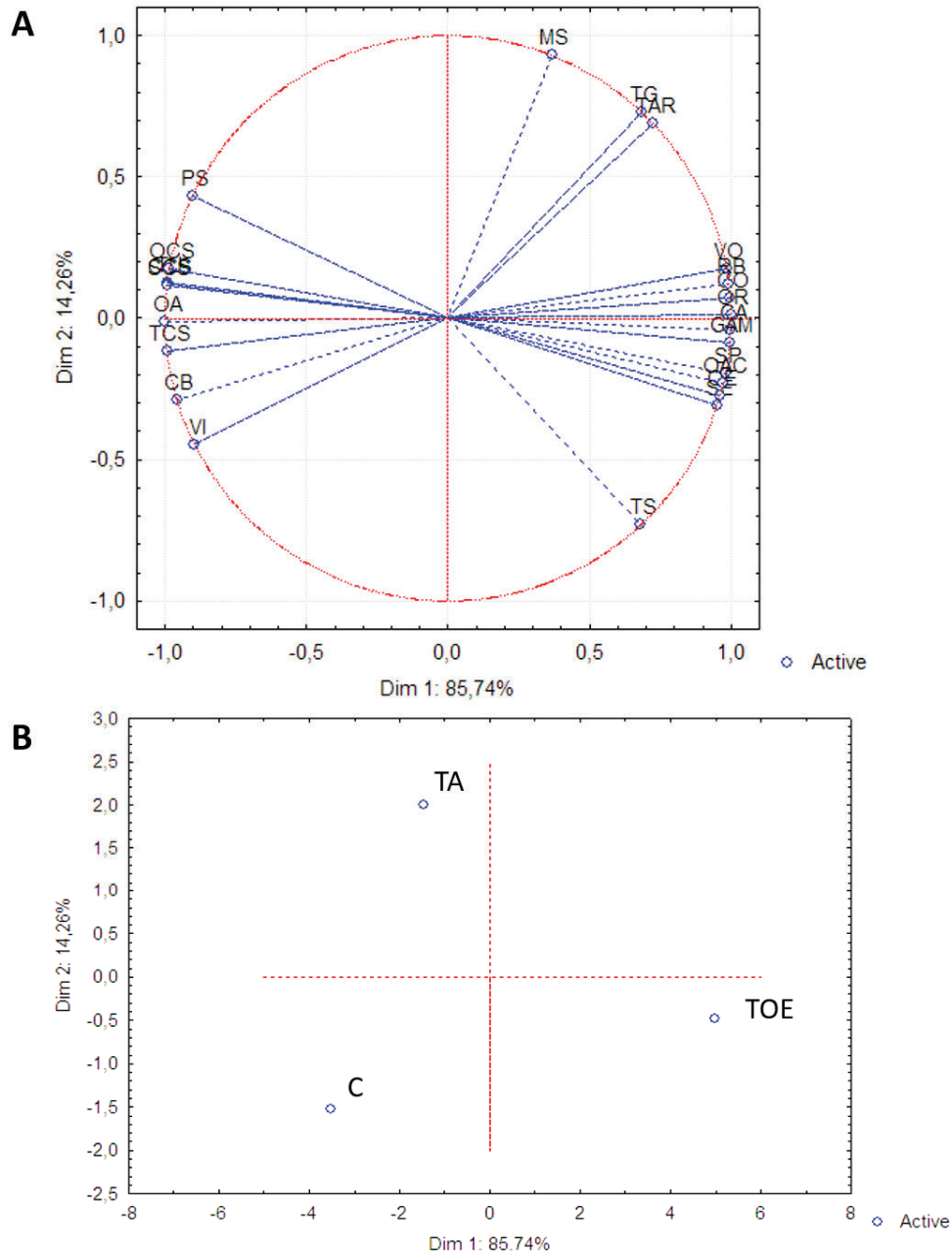
Figura 12 - Fotografia das amostras de salame tipo Italiano controle (C), com 2% de cápsulas vazias (TA) e com 2% de óleo essencial encapsulado (TOE).



### 3.3.7 Análise sensorial dos salames tipo Italiano

A metodologia CATA foi aplicada para entender a percepção dos consumidores sobre 23 características sensoriais dos tratamentos aplicados. A Figura 13 apresenta a relação dos termos da CATA para cada formulação, representando 100% da variância dos dados (Dim 1: 85,74% e Dim 2: 14,26%; Fig. 13 A). A primeira dimensão segmentou as formulações de salame (Fig. 13 B), descrito por 15 atributos sensoriais, dos quais apenas oito diferiram nas formulações ( $p < 0,05$ ), sendo os principais: muito salgado, textura gordurosa, textura arenosa, vermelho opaco, residual na boca, cor opaca, odor de ranço e gosto ácido.

Figura 13 - Análise sensorial das formulações de salame.



C: controle, TA: tratamento adicionado de 2% de cápsulas de alginato de sódio, TOE: tratamento adicionado de 2% de cápsulas de OE.  
 SP: Sabor picante, CO: Cor opaca, TU: Textura úmida, GA: Gosto ácido, OA: Odor agradável, SE: Sabor de essência, VO: Vermelho opaco,  
 MS: Muito salgado, TCS: Textura característica do salame, OR: Odor de ranço, TG: Textura gordurosa, CCS: Cor característica do salame,  
 TAR: Textura arenosa, OE: Odor de essência, SCS: Sabor característica do salame, PS: Pouco salgado, OAC: Odor ácido, CB: Cor brilhante,  
 GAM: Gosto amargo, OCS: Odor característica do salame, TS: Textura seca, VI: Vermelho intenso, RB: Residual na boca.

Atributos como sabor amargo e picante, odor ácido, textura seca, odor e sabor de essência são características indicadas para a formulação TOE, o que justifica a porcentagem de aceitabilidade desta formulação.

Na Tabela 5 estão apresentados a aceitabilidade para os atributos de cor, textura, sabor e aspecto global das formulações de salame tipo Italiano. A adição de OE encapsulado acarretou a diferença significativa nos parâmetros cor e textura, o que confirma a alteração da cor indicada no parâmetro a\* da avaliação instrumental. No entanto, esta diferença percebida pelo painel sensorial não foi verificada nos ensaios de textura instrumental, demonstrando a importância da apresentação dos produtos aos potenciais consumidores.

O atributo sabor exibiu o menor valor médio, o que justifica o índice de aceitabilidade de 58,67% do TOE, já que um índice de aceitabilidade considerado bom deveria ser superior a 70% (DUTCOSKY, 2007), como os tratamentos C e TA obtiveram.

Tabela 5 - Índices de aceitabilidade sensorial em relação aos atributos de cor, textura, sabor e aspecto global das formulações de salame tipo Italiano C: controle, sem adição de cápsulas; TA: adicionado de 2% de cápsulas de alginato; TOE: adicionado de 2% de cápsulas de OE.

Parâmetros	C	TA	TOE
Cor	7,89 <sup>a</sup>	7,53 <sup>a</sup>	6,54 <sup>b</sup>
Textura	7,65 <sup>a</sup>	7,32 <sup>a</sup>	5,97 <sup>b</sup>
Sabor	7,55 <sup>a</sup>	7,19 <sup>a</sup>	4,67 <sup>b</sup>
Aspecto Global	7,65 <sup>a</sup>	7,45 <sup>a</sup>	5,28 <sup>b</sup>
Índice de aceitabilidade	84,99%	82,75%	58,67%

Valores seguidos de letras iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Estes resultados sugerem que o sabor e o aroma dos OEs de canela e orégano, mesmo encapsulados, são um fator limitante para aplicação em alimentos, já que houve um impacto negativo na aceitabilidade dos salames adicionados destes óleos. Entretanto, estes resultados não inviabilizariam estudos com outras cápsulas, combinações de OEs ou tempo de armazenamento prolongado, que pudessem minimizar estes efeitos, já que estes óleos mostraram ação deletéria sobre *L. monocytogenes* e poderiam auxiliar no controle da bactéria em produtos prontos para consumo.

Agrimonti et al. (2019), aplicaram emulsões de OEs de orégano, tomilho e canela em embalagens frente *E. faecalis* e *S. aureus* e analisaram a aceitabilidade de hambúrgueres e carne bovina moída e cozida após 15 dias armazenados a 4°C. Todas as amostras apresentaram paladar e odor perceptíveis de OEs, mas foram consideradas aceitáveis no painel sensorial, com parâmetro de aceitação entre 60%-80%.

O efeito de dezesseis formulações de salsichas de porco e bovina contendo OE de canela além de nisina, nitrito e ácidos orgânicos mostraram que os OEs em combinação com outras substâncias podem reduzir a multiplicação microbiana com resultados aceitáveis nas avaliações organolépticas. Neste estudo, com 35 painelistas, não houve diferença significativa do controle, com 58,6% no fator gosto para as amostras (GHABRAIE et al., 2016), semelhante aos resultados de nosso estudo, porém consideramos aceitável somente acima de 70%.

Wang et al. (2020), avaliaram a ação de OE de semente de damasco em filmes de quitosana para controle de *L. monocytogenes*. Os autores relataram que 1% de OE apresentou a maior aceitação (70%) das carnes bovinas picadas, maior do que a amostra controle (43%). Carvalho et al. (2019), reportaram uma rejeição na avaliação sensorial de embutidos a base de carne de aves contendo 0,195% de OE de orégano, os autores atribuíram essa negativa ao sabor intenso e gosto residual desagradável.

### 3.4 CONCLUSÃO

A concentração de 0,3% de OE apresentou inibição contra *L. monocytogenes* em todos os tratamentos utilizados. As cápsulas produzidas atingiram 98,36% de eficiência de encapsulação com morfologia irregular, mas sem prejudicar a ação antimicrobiana. O tratamento com 2% de cápsulas foi a menor porcentagem utilizada com ação antimicrobiana e após sua aplicação em salame tipo italiano, o produto apresentou alteração na coloração e teve diferença significativa na sensorial com impacto negativo, apresentando 58,67% na aceitabilidade e os atributos encontrados na CATA foram sabor amargo e picante, odor ácido, textura seca, odor e sabor de essência.

A avaliação sensorial mostrou que ajustes para aplicação de OE são necessários, para que a quantidade de OE aplicada mantenha a atividade antimicrobiana e ao mesmo tempo, não interfira negativamente na aceitação sensorial do produto

## 4 CONCLUSÃO

Os principais componentes dos OEs de canela e orégano foram cinamaldeído (85.55%) e carvacrol (91.1%). Os OEs foram testados em diferentes concentrações, de forma isolada e combinadas e mostraram ser um antimicrobiano natural eficiente. A encapsulação dos óleos essenciais combinados (50:50) apresentou excelente eficiência de encapsulação e quando aplicados em salame tipo italiano mostraram redução significativa de *L. monocytogenes*, mesmo as cápsulas tendo apresentado morfologia irregular. A aplicação de OE em matriz alimentar demanda uma porcentagem maior de óleos para obter a mesma eficácia identificada nos ensaios de Agar Difusão e Concentração Inibitória Mínima e os resultados mostraram que conforme aumenta a quantidade de cápsulas aplicadas maior é a ação contra a bactérias. A sensorial foi aplicada e a aceitabilidade atingida foi de 58,67%, abaixo de 70% estabelecido para ser considerado aceito pelo consumidor. Os atributos encontrados na CATA foram sabor amargo e picante, odor ácido, textura seca, odor e sabor de essência, podendo ser observado a razão pela baixa aceitabilidade.

Estudos devem ser conduzidos a fim de avaliar a aplicação de outros OEs menos aromáticos bem como diferentes materiais de parede, acompanhando a liberação do OE no produto durante o armazenamento além da avaliação sensorial em diferentes períodos.

## REFERÊNCIAS

- ACARKA, G. Composition and antibacterial effect on food borne pathogens of *Hibiscus surrattensis* L. calyces essential oil. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 285-289, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.043>.
- AGRIMONTI, C.; WHITE, J. C.; TONETTI, S.; MARMIROLI, N. Antimicrobial activity of cellulosic pads amended with emulsions of essential oils of oregano, thyme and cinnamon against microorganisms in minced beef meat. **International Journal of Food Microbiology**, v. 305, p. 108246, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108246>.
- AGUERO, L.; ZALDIVAR, D.; PEÑA, L.; RAMÓN, J. A.; DIAS, M. L. Alginate microparticles a oral colon drug delivery device: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 168, p. 32-43, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.03.033>.
- AGUERO, L.; ZALDIVAR, D.; PEÑA, L.; SOLÍS, Y.; RAMÓN, J. A.; DIAS, M. L. Preparation and characterization of pH-sensitive microparticles based on polyelectrolyte complexes for antibiotic delivery. **Polymer Engineering Science**, v. 55, p. 981-987, 2015. <https://doi.org/10.1002/pen.23962>.
- ALI, B.; AL-WABEL, N. A.; SHAMS, S.; AHAMAD, A.; KHAN, S. A.; ANWAR, F. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5 n. 8, p. 601 – 611, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.007>.
- ALLAM, M.; TAU, N.; SMOUSE, S. L.; MTSHALI, P. S.; MNYAMENI, F.; KHUMALO, Z. T. H.; ISMAIL, A.; GOVENDER, N.; THOMAS, J.; SMITHA, A. M. Whole-Genome Sequences of *Listeria monocytogenes* sequence type 6 isolates associated with a large foodborne outbreak in South África, 2017 to 2018. **Genome Announcements**, v. 6, n. 25, 2018. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00538-18>.
- ALVES, A. I.; RODRIGUES, M. Z.; PINTO, M. R. M. R.; VANZELA, E. S. L.; STRINGHETA, P. C.; PERRONE, I. T.; RAMOS, A. M. Morphological characterization of pequi extract microencapsulated through spray drying. **International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 2, p. 1298–1305, 2017. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1343344>.
- AMINZARE, M.; ALIAKBARLU, J.; TAJIK, H. The effect of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil on chemical characteristics of Lyoner- type sausage during refrigerated storage. **Veterinary Research Forum**, v. 6, n. 1, p. 31–39, 2015.
- AMOR, G.; CAPUTO, L.; STORIA, A. L.; FEO, V. D.; MAURIELLO, G.; FECHTALI, T. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Artemisia herba-alba* and *Origanum majorana* Essential Oils from Morocco. **Molecules**, v. 24, n. 22, 2019. <https://doi.org/10.3390/molecules24224021>.
- AUGUSTIN, M. A.; SANGUANSRI, L.; BODE, O. Maillard reaction products as encapsulants for fish oil powders. **Journal Food Science**, v. 71, n. 2, p. 25-32, 2006. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb08893.x>.
- BACUS, J. Meat fermentation. **Food Technology**, v 54, p. 59 - 63, 1984.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446-475, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.

BALLESTEROS, L. F.; RAMIREZ, M. J.; ORREGO, C. E.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S. I. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials. **Food Chemistry**, v. 237, p. 623-631, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.142>.

BANNIKOVA, A.; EVTEEV, A.; PANKIN, K.; EVDOKIMOV, I.; KASAPIS, S. Microencapsulation of fish oil with alginate: In-vitro evaluation and controlled release. **LWT-Food Science and Technology**, v. 90 (2018), pp. 310-315. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.045>

BARBOSA, I. D. M.; MEDEIROS, J. A. C.; OLIVEIRA, K. Á. R.; GOMES-NETO, N. J.; TAVARES, J. F.; MAGNANICE, M.; SOUZA, V. L. D. Efficacy of the combined application of oregano and rosemary essential oils for the control of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Enteritidis* in leafy vegetables. **Food Control**, v. 59, p.468-477, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.017>.

BARBOSA, R. F. D. S.; YUDICE, E. D. C.; MITRA, S. K.; ROSA, D. D. S. Characterization of Rosewood and Cinnamon Cassia essential oil polymeric capsules: stability, loading efficiency, release rate and antimicrobial properties. **Food Control**, v. 121, p. 107605, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107605>.

BAYOMI, M. A.; AL-SUWAYEH, S. A.; EL-HELW, A. M.; MESNAD, A. F. Preparation of casein–chitosan microsphere containing diltiazem hydrochloride by an aqueous coacervation technique. **Pharmaceutica Acta Helveticae**, v. 73, n. 4, p. 187-192, 1998. [https://doi.org/10.1016/S0031-6865\(98\)00020-X](https://doi.org/10.1016/S0031-6865(98)00020-X).

BERTHOLOM, C. **Le point sur la listériose**. Option/Bio, v. 29, p. 17-18, 2018.

BOR, T.; ALJALOUD, S. O.; GYAWALR, I.; IBRAHIM, S. A. Antimicrobials from herbs, spices, and plants. **Encapsulations**, v. 2, p. 269-293, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802972-5.00026-3>.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa - IN nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União 26 dezembro 2019.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 272, de 14 de março de 2019. Estabelece os aditivos alimentares autorizados para uso em carnes e produtos cárneos. Diário Oficial da União 18 março 2019.

BUCHANAN, R. L.; GORRIS, L. G. M.; HAYMAN, M. M.; JACKSON, T. C.; WHITING, R. C. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. **Food Control**, v. 75, p. 1-13, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.12.016>.

BUKVICKI, D.; STOJKOVIĆ, D.; SOKOVIĆ, M.; VANNINI, L.; MONTANARI, L.; PEJIN, B.; SAVIĆ, A.; VELJIĆ, M.; GRUJIĆ, S.; MARINA, P. D. *Satureja horvatii* essential oil: In vitro antimicrobial and antiradical properties and in situ control of *Listeria monocytogenes* in

pork meat. **Meat Science**, v. 96, n. 3, p. 1355-1360, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.11.024>.

CAETANO, L. A.; ALMEIDA, A. J.; GONÇALVES, L. Effect of experimental parameters on alginate/chitosan microparticle for BCG encapsulation. **Marine Drugs**, v. 14, p. 90, 2016. <https://doi.org/10.3390/md14050090>.

CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. **Food Control**, v. 54, p. 111–119, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.040>.

ÇAM, M.; İÇYER, N. C.; ERDOGAN, F. Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and ingredient for functional food development. **LWT- Food Science and Technology**, v. 55, n. 1, p. 117-123, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.011>.

CAMEJO, A.; CARVALHO, F.; REIS, O.; LEITÃO, E.; SOUSA, S.; CABANES, D. The arsenal of virulence factors deployed by *Listeria monocytogenes* to promote its cell infection cycle. **Virulence**, v. 2, p. 379-394, 2011. <https://doi.org/10.4161/viru.2.5.17703>.

CARDOSO, M. J.; COSTA, R. R.; MANO, J. F. Marine origin polysaccharides in drug delivery systems. **Marine Drugs**, v. 14, p. 34, 2016. <https://doi.org/10.3390/md14020034>.

CARDOSO-UGARTE, G. A.; LÓPEZ-MALO, A.; SOSA-MORALES, M. E. **Cinnamon (Cinnamomum zeylanicum) Essential Oils**. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety, p. 339-347, 2016.

CARVALHO, M. I. P.; ALBANO, H. C. P.; TEIXEIRA, P.C.M. Influence of oregano essential oil on the inhibition of selected pathogens in "Alheira" during storage. **Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria**, v. 18, n. 1, p. 13-23, 2019. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2019.0624>.

CASTRO, J. C.; ENDO, E. H.; SOUZA, M. R.; ZANQUETA, E. B.; POLÔNIO, J. C.; PAMPHILE, J. A.; UEDA-NAKAMURA, T.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. D.; FILHO, B. A. A. Bioactivity of essential oils in the control of *Alternaria alternata* in dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haw). **Industrial Crops and Products**, v. 97, p. 101-109, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.12.007>.

CASTRO, A. M. A.; AYALA-ZAVALA, J. F.; MUNOZ-CASTELLANOS, L.; HERNANDEZ-OCHOA, L.; PEYDECASTAING, J.; DURRIEU, V. Beta-Cyclodextrin inclusion complexes containing clove (*Eugenia caryophyllata*) and Mexican oregano (*Lippia berlandieri*) essential oils: Preparation, physicochemical and antimicrobial characterization. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 14, p. 96-10, 2017B. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.09.002>.

CHARLIER, C.; SELLIER, Y.; BILLE, E.; DRIESSEN, M.; KERMORVANT, E.; LECUIT, M. Listériose et grossesse. Protocole de prise en charge au sein de l'hôpital Necker-Enfants-Malades Listeriosis and pregnancy: Management protocol at Necker hospital. **La Revue Sage-Femme**, v. 18, p. 199-203, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.sagf.2019.03.005>.

CHATURONGAKUL, S.; RAENGPRADUB, S.; WIEDMANN, M.; BOOR, K. J. Modulation of stress and virulence in *Listeria monocytogenes*. **Trends in Microbiology**, v. 16, p. 388-396, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.05.006>.



- CHUANG, S.; SHEEN, S.; SOMMERS, C. H.; ZHOU, S.; SHEEN, L.Y. Survival Evaluation of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* on Selective and Nonselective Media in Ground Chicken Meat Subjected to High Hydrostatic Pressure and Carvacrol. **Journal of Food Protection**, v. 83, n.1, p. 37–44, 2020. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-19-075>.
- CUI, H.; ZHANG, C.; LI, C.; LIN, L. Antimicrobial mechanism of clove oil on *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 94, p. 140 - 146, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.007>.
- DIANAWATI, D.; MISHIRA, V.; SHAH N.P. Role of calcium alginate and mannitol in protecting Bifidobacterium. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, p. 6914-6921, 2012. <https://doi.org/10.1128/AEM.01724-12>.
- DONG, Z.; MA, Y.; HAYAT, K.; JIA, C.; XIA, S.; ZHANG, X. Morphology and release profile of microcapsules encapsulating peppermint oil by complex coacervation. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p. 455-460, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.01.011>.
- DREHER, J.; KONIG, M.; HERRMANN, M.; TERJUNG, N.; GIBIS, M.; WEISS, J. Varying the amount of solid fat in animal fat mimetics for plant-based salami analogues influences texture, appearance and sensory characteristics. **LWT- Food Science and Technology**, v. 143, p 111140, 2021.
- DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. PR- Curitiba: Champagnat, 4° Ed., 2015.
- EFSA and BIOHAZ; RICCI, A.; ALLENDE, A.; BOLTON, D.; CHEMALY, M.; DAVIES, R.; ESCÁMEZ, P. S. F.; GIRONES, R.; HERMAN, L.; KOUTSOUMANIS, K.; NORRUNG, B.; ROBERTSON, L.; RU, G.; SANAA M.; SIMMONS, M.; SKANDAMIS, P.; SNARY, E.; SPEYBROECK, N.; KUILE, B.T.; THRELFALL, J.; WAHLSTREOM, H.; TAKKINEN, J.; WAGNER, M.; ARCELLA, D.; FELICIO, M. T. D. S.; GEORGIADIS, M.; MESSENS, W.; LINDQVIST R. **Listeria monocytogenes contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU**. EFSA Journal, v. 16, n. 1, p. 5134, 2018.
- EFSA. European Food Safety Authority; ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control. **The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017**, v. 16, 2018. Disponível em: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2018.5500>. Acesso em: 27 set. 2019.
- FDA. Food and Agriculture Organization. **Code of Federal Regulations Title 21**. Substances generally recognized as safe. v. 3, 2018. Disponível: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=182.20>. Acesso em: 27 set. 2019.
- FIELD, D.; DALY, K.; O'CONNOR, P. M.; COTTER, P. D.; HILL, C.; ROSS, R. P. Efficacies of nisin a and nisin v semipurified preparations alone and in combination with plant essential oils for controlling *Listeria monocytogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 81 p. 2762-2769, 2015. <https://doi.org/10.1128/AEM.00070-15>.
- FRIEDMAN, M. Chemistry, antimicrobial mechanisms, and antibiotic activities of cinnamaldehyde against pathogenic bacteria in animal feeds and human foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 48, p.10406-10423, 2017. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04344>.

FRIEDMAN, M.; HENIKA, P. R.; MANDRELL, R. E. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella entérica*. **Journal of Food Protection**, v. 65, p. 1545-1560, 2002. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-65.10.1545>.

GARRIDO, V.; VITAS, A. I.; GARCÍA-JALÓN, I. Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products: Prevalence by brands and retail establishments for exposure assessment of listeriosis in Northern Spain. **Food Control**, v. 20, p. 986-991, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2008.11.013>.

GHABRAIE, M.; VU, K. D.; HUQ, T.; KHAN, A.; LACROIX, M. Antilisterial effects of antibacterial formulations containing essential oils, nisin, nitrite and organic acid salts in a sausage model. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 6, p. 2625–2633, 2016. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2232-x>.

GHOSH, V.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Eugenol-loaded antimicrobial nanoemulsion preserves fruit juice against, microbial spoilage. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 114, p. 392-397, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.10.034>.

GÓMEZ, B.; BARBA, F. J.; DOMÍNGUEZ, R.; PUTNIK, P.; KOVAČEVIĆ, D. B.; PATEIRO, M.; TOLTRÁ, F.; LORENZO, J. M. Microencapsulation of antioxidant compounds through innovative technologies and its specific application in meat processing. **Trends in Food Science & Technology**, v. 82, p. 135-147, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.10.006>.

GÓMEZ, D.; IGUÁCEL, L. P.; ROTA, M.; CARRAMIÑANA, J. J.; ARIÑO, A.; YANGÜELA, J. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products and meat processing plants in Spain. **Foods**, v. 4, n.3, p. 271-282, 2015. <https://doi.org/10.3390/foods4030271>.

GONÇALVES, N. D.; PENA, F. D. L.; SARTORATTO, A.; DERLAMELINA, C.; DUARTE, M. C. T.; ANTUNES, A. E. C.; PRATA, A. S. Encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil used as a natural preservative in bakery product. **Food Research International**, v. 96, p. 154-160, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.006>.

GUPTA, S.; KHAN, S.; MUZAFAR, M.; KUSHWAHA, M.; YADAV, A. K.; GUPTA, A. P. **Encapsulamentos**: Chapter 6 - Encapsulation: entrapping essential oil/flavors/aromas in food. Elsevier Inc, v. 2, p. 229-268, 2016.

HAMID; THAKUR, N.S; THAKUR, A. Microencapsulation of wild pomegranate flavedo phenolics by lyophilization: Effect of maltodextrin concentration, structural morphology, functional properties, elemental composition and ingredient for development of functional beverage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 133, p. 110077, 2020.

HENRIQUES, A. R.; GAMA, L. T.; FRAQUEZA, M. J. Tracking *Listeria monocytogenes* contamination and virulence-associated characteristics in the ready-to-eat meat-based food products industry according to the hygiene level. **International Journal of Food Microbiology**, v. 242, n. 2, p. 101-106, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.020>.

HIJAZEEN, A. M. Evaluate anti-bacterial activity of rosmarinus officinalis linn. Extract and origanum syriacum l. Essential oil using raw chicken meat. Source: **Carpathian Journal of Food Science & Technology**, v. 10, n. 2, p. 133-145, 2018.

HULANKOVA, R.; BORILOVA, G.; STEINHAUSEROVA, I. Combined antimicrobial effect of oregano essential oil and caprylic acid in minced beef. *Meat Science*, v. 95, n. 2, p.190-194, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.05.003>

JAFARI, S. M.; ASSADPOOR, E.; HE, Y.; BHANDARI, B. Encapsulation efficiency of food flavors and oils during spray-drying. **Drying Technology**, v. 26, p. 816-835, 2008. <https://doi.org/10.1080/07373930802135972>.

KAKAEI, S.; SHAHBAZI, Y. Effect of chitosan-gelatin film incorporated with ethanolic red grape seed extract and *Ziziphora clinopodioides* essential oil on survival of *Listeria monocytogenes* and chemical, microbial and sensory properties of minced trout fillet. **LWT - Food Science and Technology**, v. 72, p. 432-438, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.021>

KAUSHIK, P.; DOWLING, K.; BARROW, C. J.; ADHIKARI, B. Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods. **Journal of Functional Foods**, v. 19, p. 868–881, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.06.029>.

LEE, K. Y.; MOONEY, D. J. Alginate: properties and biomedical applications. **Progress in Polymer Science**, v. 37, p. 106-126, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003>.

LEIMANN, F. V.; GONÇALVES, O. H.; MACHADO, R. A. F., BOLZAN, A. Antimicrobial activity of microencapsulated lemongrass essential oil and the effect of experimental parameters on microcapsules size and morphology. **Materials Science and Engineering**, v. 29, p. 430-436, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2008.08.025>.

LIANOU, A.; GEORNARAS, I.; KENDALL, P. A.; SCANGA, J. A.; SOFOS, J. N. Behavior of *Listeria monocytogenes* at 7 degrees C in commercial Turkey breast, with or without antimicrobials, after simulated contamination for manufacturing, retail and consumer settings. **Food Microbiology**, v. 24, n. 5, p. 433-443, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.11.002>.

LIANOU, A.; SOFOS, J. N. A review of the incidence and transmission of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat products in retail and food service environments. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 9, p. 2172-2198, 2007. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.9.2172>.

MARINELLI, L.; STEFANO, A. D.; CACCIATORE, I. Carvacrol and its derivatives as antibacterial agents. **Phytochemistry Reviews**, v. 17, p. 903-921, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11101-018-9569-x>

MATOS, E. F. D; SCOPEL, S. B.; DETTMER, A. Citronella essential oil microencapsulation by complex coacervation with leather waste gelatin and sodium alginate. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, p. 1989-1994, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.03.002>.

MAZZARRINO, G.; PAPARELLA, A.; CHAVES-LOPEZ, C.; FABERI, A.; SERGI, M.; SIGISMONDI, C.; COMPAGNONE, D.; SERIO, A. *Salmonella enterica* and *Listeria*

*monocytogenes* inactivation dynamics after treatment with selected essential oils. **Food Control**, v. 50, p. 794–803, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.10.029>.

MCLAUHLIN, J. The pathogenicity of *Listeria monocytogenes* a public health perspective. **Reviews in Medical Microbiology**, v. 8, p. 1-14, 1997.

MECHERGUIA, K.; JAOUADI, W.; COELHO, J. P.; KHOUJA, M. L. Effect of harvest year on production, chemical composition and antioxidant activities of essential oil of oregano (*Origanum vulgare* subsp glandulosum (Desf.) Ietswaart) growing in North Africa. **Industrial Crops and Products**, v. 90, p. 32-37, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.06.011>.

MEJLHOLM, O.; GUNVIG, A.; BORGGAARD, C.; BLOM-HANSEN, J.; MELLEFONT, L.; ROSS, T.; LEROI, F.; ELSE, T.; VISSER, D.; DALGAARD, P. Predicting growth rates and growth boundary of *Listeria monocytogenes*-an international validation study with focus on processed and ready-to-eat meat and seafood. **International Journal of Food Microbiology**, v. 141, p. 137–150, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.04.026>.

MERINO, N.; BERDEJO, D.; BENTO, R.; SALMAN, H.; LANZ, M.; MAGGI, F.; SÁNCHEZ-GÓMEZ, S.; GARCÍA-GONZALO, D.; PAGÁN, R. Antimicrobial efficacy of *Thymbra capitata* (L.) Cav. essential oil loaded in self-assembled zein nanoparticles in combination with heat. **Industrial Crops & Products**, v. 133, p. 98-104, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.003>.

MOREIRA, A. P. D., SADER, M. S.; SOARES, G. D. D. A.; LEÃO, M. H. M. R. Strontium incorporation on microspheres of alginate/ $\beta$ -tricalcium phosphate a delivery matrices. **Materials Research**, v. 17, p. 967-973, 2014. <https://doi.org/10.1590/S1516-14392014005000095>.

MURRAY, E. G. D.; WEBBER, A.; SWANN, M. B. R. A disease of rabbits characterised by a large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes* (n.sp.). **The Journal of Pathology and Bacteriology**, v. 29, p. 407-439, 1926. <https://doi.org/10.1002/path.1700290409>.

NAIRM, J. Coacervation-phase separation technology. **Advances in pharmaceutical sciences**, v. 7, p. 93-219, 1995. [https://doi.org/10.1016/S0065-3136\(06\)80005-1](https://doi.org/10.1016/S0065-3136(06)80005-1).

NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; DE MARTINO, L.; COPPOLA, R.; FEO, D. V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, v. 6, p. 1451–1474, 2013. <https://doi.org/10.3390/ph6121451>.

NERIN, C.; ASTUDILLO, M.; COVIÁN, I.; MUJIKÁ, R. Active packaging that inhibits food pathogens. European Patent Office, 2017.

NOSHIRVANI, N.; GHANBARZADEH, B.; GARDRAT, C.; REZAEI, M. R.; HASHEMI, M.; COZ, C. L.; COMA, V. Cinnamon and ginger essential oils to improve antifungal, physical and mechanical properties of chitosan-carboxymethyl cellulose films. **Food Hydrocolloids**, v. 70, p. 36-45, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.015>.

OCDE-FAO. Perspectivas Agrícolas 2015-2024. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i4761o.pdf>. Acesso em 30 ago. 2019.

OLIVEIRA, D. M. M.; BRUGNERA, D. F.; PICCOLI, R. H. Essential oils of thyme and Rosemary in the control of *Listeria monocytogenes* in raw beef. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 4, p. 1181-1188, 2014. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000400022>.

Oliveira, T. L. C.; Carvalho, S. M.; Soares, R. A.; Andrade, M. A.; Cardoso, M. G.; Ramos, E. M.; Picoli, R. H. Antioxidant effects of *Satureja montana* L. essential oil on TBARS and color of mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. **Journal of Food Science and Technology**, v. 45, n. 2, p. 204–212, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.09.006>

OOI, L. S.; LI, Y.; KAM, S. L.; WANG, H.; WONG, E.Y.; OOI, V. E. Antimicrobial activities of cinnamon oil and cinnamaldehyde from the Chinese medicinal herb *Cinnamomum cassia* Blume. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 34, n. 3, p. 511-522, 2006. <https://doi.org/10.1142/S0192415X06004041>.

ORTEGA-RAMIREZ, L. A.; RODRIGUEZ-GARCIA, I.; SILVA-ESPINOZA, B. A.; AYALA-ZAVALA, J. F. **Flavor and Safety**; Chapter 71 - Oregano (*Origanum* spp.) oils. essential oils in food preservation, 2016, p. 625-631.

OUSSALAHA, M.; CAILLET, A.; SAUCIER, L.; LACROIX, M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 18, p. 414-420, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.11.009>.

OXLEY, J. **Microencapsulation in the Food Industry**; Chapter 4 - Overview of Microencapsulation Process Technologies. Academic Press, 2014, 35-46 p.

OZKAN, G.; FRANCO, P.; MARCO, I. D.; XIAO, J.; CAPANOGLU, E. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. **Food Chemistry**, v. 272, p. 494-506, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.205>.

PAUDEL, S. K.; BHARGAVA, K.; KOTTURI, H. Antimicrobial activity of cinnamon oil nanoemulsion against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. on melon. **LWT - Food Science and Technology**, v. 111, p. 682-687, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.087>.

PEDRÓS-GARRIDO, S.; CLEMENTE, I.; CALANCHE, J. B.; CONDÓN-ABANTO, S.; BELTRÁN, J. A.; LYNG, J. G.; BRUNTON, N.; BOLTON, D.; WHYTE, P. Antimicrobial activity of natural compounds against *Listeria* spp. and their effects on sensory attributes in salmon (*Salmo salar*) and cod (*Gadus morhua*). **Food Control**, v. 107, p. 106768, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106768>.

PELLICER, J. A.; FORTEA, M. I.; TRABAL, J.; RODRÍGUEZ-LÓPEZ, M. I.; GABALDÓN, J. A.; NÚÑEZ-DELICADO, E. Stability of microencapsulated strawberry flavour by spray drying, freeze drying and fluid bed. **Powder Technology**, v. 347, p.179-185, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.03.010>.

PHAM, V. C.; NGUYENA, T. T. A.; VU, T. O.; CAO, T. Q.; MIN, B. S.; KIM, J. A. Five new diterpenoids from the barks of *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl. **Phytochemistry Letters**, v. 32, p. 23-28, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.04.025>.

- PLANTA, R. M.; DINH, L.; ARGO, S.; SHAH, M. The Essentials of Essential Oils. **Advances in Pediatrics**, v. 66, p. 111-122, 2019. <https://doi.org/10.2146/ajhp151043>.
- POPOVIĆ-DJORDJEVIĆ, J.; CENGIZ, M.; OZER, M. S.; SARIKURKCU, C. Calamintha incana: Essential oil composition and biological activity. **Industrial Crops and Products**, v. 128, p. 162 -166, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.003>.
- RADÜNZ, M.; HACKBART, H. C. S.; CAMARGO, T. M.; NUNES, C. F. P.; BARROS, F. A. P.; DALMAGRO J.; FILHO, P. J. S.; GANDRA, E. A.; RADÜNZ, A. L.; ZAVAREZEA E. R.. Antimicrobial potential of spray drying encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil on the conservation of hamburger-like meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 330, p. 108696, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108696>.
- RAEISI, M.; TABARAEI, A.; HASHEMI, M.; BEHNAMPOUR, N. Effect of sodium alginate coating incorporated with nisin, Cinnamomum zeylanicum, and rosemary essential oils on microbial quality of chicken meat and fate of *Listeria monocytogenes* during refrigeration. **International Journal of Food Microbiology**, v. 238, p. 139-145, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.042>.
- RAO, J.; CHEN, B.; MCCLEMENTS, D. J. Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: Mechanism of action. **Annual reviews food science technology**, v. 10, p. 365-387, 2019. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032818-121727>.
- RÍOS, J. L. **Essential oils in food preservation, flavor and safety**. Chapter 1 - Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined, 2016, 3-10 p.
- RODRÍGUEZ, J.; MARTÍN, M. J.; RUIZ, M. A.; CLARES, B. Current encapsulation strategies for bioactive oils: From alimentary to pharmaceutical perspectives. **Food Research International**, v. 83, p. 41-59, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.032>.
- ROSA, C. G.; MELO A. P. Z.; SGANZERLA W. G.; MACHADO, M. H.; NUNES, M. R.; MACIEL M. V. D. O. B.; BERTOLINI, F. C; BARRETO, P. L. M. Application in situ of zein nanocapsules loaded with *Origanum vulgare* Linneus and *Thymus vulgaris* as a preservative in bread. **Food Hydrocolloids**, v. 99, p. 105339, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105339>.
- SAGOO, S. K.; LITTLE, C. L.; ALLEN, G.; WILLIAMSON, K.; GRANT, K. A. Microbiological safety of retail vacuum-packed and modified-atmosphere-packed cooked meats at end of shelf life. **Journal of Food Protection**, v. 70, n. 4, p. 943-951, 2007. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-70.4.943>.
- SAKKAS, H.; PAPADOPOULOU, C. Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 27, p, 429-438, 2017. <https://doi.org/10.4014/jmb.1608.08024>.
- SANGUANSRI, P.; AUGUSTIN, A. M. Nanoscale materials development e a food industry perspective. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 547 – 556, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.04.010>.
- SANTOS, J. D. C.; COELHO, E.; SILVA, R.; PASSOS, C. P.; TEIXEIRA, P.; HENRIQUES, I.; COIMBRA, M. A. Chemical composition and antimicrobial activity of

*Satureja montana* byproducts essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 137, p. 541-548, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.05.058>.

SCHEID, G. A. Physical-chemical and sensory evaluation of Italian-type salami at different concentrations of clove (*Eugenia caryophyllus*). 2001. 93 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

SHAHBAZI, Y.; SHAVISI, N.; MOHEBI, E. Potential application of *Ziziphora clinopodioides* essential oil and nisin as natural preservatives against *Bacillus cereus* and *Escherichia coli* O157:H7 in commercial barley soup. **Journal of Food Safety**, v. 36, n. 4, p. 435-441, 2016. <https://doi.org/10.1111/jfs.12257>.

SILVA, A. F.; SANTOS, A. R.; TREVISAN, D. C.; RIBEIRO, A. B.; CAMPANERUT-SÁ, P. A. Z.; KUKOLJ, C.; SOUZA, E. M.; CARDOSO, R. F.; SVIDZINSKI, T. I. E.; FILHO, B. A. A.; JUNIOR, M. M.; MIKCHA, J. M. G. *Cinnamaldehyde* induces changes in the protein profile of *Salmonella Typhimurium* biofilm. **Research in Microbiology**, v.169, n. 1, p. 33-43, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2017.09.007>.

SILVA<sup>b</sup>, T. M. D; LOPES, E. J.; CODEVILLA, C. F.; CICHOSKI, A. J.; FLORES, E. M. M.; MOTTA, M. H.; SILVA, C. D. B; GROSSO, C. R. F.; MENEZES, C. R. Development and characterization of microcapsules containing Bifidobacterium Bb-12 produced by complex coacervation followed by freeze drying. **LWT – Food Science and Technology**, v. 90, p. 412-417, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.12.057>.

SIMIONATO, I.; DOMINGUES, F. C.; NERÍN, C.; SILVA, F. Encapsulation of cinnamon oil in cyclodextrin nanosponges and their potential use for antimicrobial food packaging. **Food and Chemical Toxicology**, v. 132, p. 110647, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110647>.

SOBEL, R.; VERSIC, R.; GAONKAR, A.G. **Microencapsulation in the Food Industry**; Chapter 1 - Introduction to microencapsulation and controlled delivery in foods. San Diego: Academic Press, 2014, 3-12 p.

SOLOMON, B.; SAHLE, F. F.; GEBRE-MARIAM, T.; ASRES, K.; NEUBERT, R. H. H. Microencapsulation of citronella oil for mosquito-repellent application: Formulation and *in vitro* permeation studies, European. **Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, p. 61-66, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2011.08.003>.

SOUZA, G. T. D.; CARVALHO, R. J. D., SOUSA, J. P. D; TAVARES, J. F.; SCHAFFNER, D.; SOUZA, E. L. D.; MAGNANI, M. Effects of the Essential Oil from *Origanum vulgare* L. on Survival of Pathogenic Bacteria and Starter Lactic Acid Bacteria in Semihard Cheese Broth and Slurry. **Journal of Food Protection**, v. 79, p. 246 – 252, 2016. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-172>.

SOUZA, L. G. V.; CARVALHO, C. W. P.; MARCONCINI, J. M.; ASCHERI, J. L. **Propriedades mecânicas de filmes biodegradáveis de amido de mandioca adicionados de nanofibrilas de algodão**. 10.º Congresso Brasileiro de Polímeros, Foz do Iguaçu, 2009.

STRATAKOS, A. C.; IJAZ, U. Z.; WARD, P.; LINTON, M.; KELLY, C.; PINKERTON, L.; SCATES, P.; MCBRIDE, J.; PET, I.; CRISTE, A.; STEF, D.; COUTO, J. M.; SLOAN, W.T.; DORRELL, N.; WREN, B. W.; STEF, L.; GUNDOGDU, O.; CORCIONIVOSCHI N. In

vitro and in vivo characterisation of *Listeria monocytogenes* outbreak isolates. **Food Control**, v.107, p. 106784, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106784>.

SUTAPHANIT, P.; CHITPRASERT, P. Optimisation of microencapsulation of holy basil essential oil in gelatin by response surface methodology. **Food Chemistry**, v. 150, p. 313-320, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.159>.

SWAMINATHAN, B.; GERNER-SMIDT, P. The epidemiology of human listeriosis. **Microbes and Infection**, v. 9, p. 1236-1243, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2007.05.011>.

TANEJA, A.; SINGH, H. Challenges for the delivery of long-chain n-3 fatty acids in functional foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 3, p. 105-123, 2012. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101130>.

THONNINGS, S.; KNUDSEN, J. D.; SCHONHEYDER, H. C.; SOGAARD, M.; ARPI, M.; GRADEL, K. O.; OSTERGAARD, C.; JENSEN, U. S.; KOCH, K.; SMIT, J.; PINHOLT, M. Antibiotic treatment and mortality in patients with *Listeria monocytogenes* meningitis or bacteraemia. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, p. 725-730, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.06.006>.

TIMILSENA, Y. P.; AKANBI, T. O.; KHALID, N.; ADHIKAR, B.; BARROW, C. J. Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 121, p. 1276-1286, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.144>.

TODD, E. C. D.; NOTERMANS, S. Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 22, p. 1484-1490, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.07.021>.

TRINDADE, M. A.; GROSSO, C. R. The stability of ascorbic acid microencapsulated in granules of rice starch and in gum arabic. **Journal of Microencapsulation**, v. 17, n. 2, p. 169-76, 2000. <https://doi.org/10.1080/026520400288409>.

VASISHT, N. **Microencapsulation in the food industry**: Chapter 16 - Selection of Materials for microencapsulation. Academic Press, 2014, 173-180 p.

VENKATESAN, J.; BHATNAGAR, I.; MANIVASAGAN, P.; KANG, K.H.; KIM, S.K. Alginate composites for bone tissue engineering: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 269-281, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.07.008>.

WANG, D.; DONG, Y.; CHEN, X.; LIU, Y.; WANG, J.; WANG, X.; WANG, C.; SONG, H. Incorporation of apricot (*Prunus armeniaca*) kernel essential oil into chitosan films displaying antimicrobial effect against *Listeria monocytogenes* and improving quality indices of spiced beef. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 162, p. 838–844, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.220>.

WHO, Organização Mundial da Saúde. **Listeriose da Organização Mundial de Saúde**. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis>. Acesso em: 1 de nov. 2018.



XIAO, Z.; LIU, W.; ZHU, G.; ZHOU, R.; NIU, Y. A review of the preparation and application of flavour and essential oils microcapsules based on complex coacervation technology. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 8, p. 1482-1494, 2014. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6491>.

YAN, C.; ZHANG, W. **Microencapsulation in the Food Industry: A Practical Implementation Guide: Chapter 12 - Coacervation Processes**, 2014, 125-137 p.

YEO, Y.; BELLAS, E.; FIRESTONE, W.; LANGER, R.; KOHANE, D.S. Complex coacervates for thermally sensitive controlled release of flavor compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 19, p. 7518-7225, 2005. <https://doi.org/10.1021/jf0507947>.

YILDIRIM, S.; ROCKER, B.; PETTERSEN, M. K; NILSEN-NYGAARD, J.; AYHAN, Z.; RUTKAITE, R.; RADUSIN, T.; SUMINSKA, P.; MARCOS, B.; COMA, V. Active Packaging Applications for Food. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, p. 165-199, 2018. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12322>.

ZAKHAROVA, L.; MIRGORODSKAYA, A.; GAYNANOVA, G.; KASHAPOV, R.; PASHIROVA, T.; VASILIEVA, E.; ZUEV, Y.; SYNYASHIN, O. **Encapsulations: Nanotechnology in the Agri-Food Industry**; Chapter 8 - Supramolecular strategy of the encapsulation of low-molecular-weight food ingredients. Academic Press, 2016, 295-362 p.

ZHAO, W.; WANG, Y. Coacervation with surfactants: from single-chain surfactants to gemini surfactants. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 239, p. 199-212, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.04.005>

ZUNABOVIC, M.; DOMIG, K. J.; KNEIFEL, W. Practical relevance of methodologies for detecting and tracing of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods and manufacture environments – a review. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, p. 351-362, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.08.005>.

## APÊNDICE A – FREQUÊNCIA DOS ATRIBUTOS DA CATA

Tabela 5 - Frequência dos atributos da CATA

Atributos	C	TA	TOE
Sabor picante (SP)	22	23	47
Cor opaca (CO)	10	18	36
Textura úmida (TU)	43	41	26
Gosto ácido (GA)	3	7	23
Odor agradável (OA)	74	62	26
Sabor de essência (SE)	18	14	59
Vermelho opaco (VO)	15	25	40
Muito salgado (MS)	6	14	11
Textura característica do salame (TCS)	74	58	28
Odor de ranço (OR)	0	4	16
Textura gordurosa (TG)	26	31	31
Cor característica do salame (CCS)	71	67	38
Textura arenosa (TA)	3	18	19
Odor de essência (OE)	8	6	47
Sabor característica do salame (SCS)	70	63	14
Pouco salgado (PS)	21	23	14
Odor ácido (OAC)	3	3	15
Cor brilhante (CB)	29	19	9
Gosto amargo (GAM)	3	7	29
Odor característica do salame (OCS)	64	61	17
Textura seca (TS)	10	5	14
Vermelho intenso (VI)	24	11	4
Residual na boca (RB)	12	25	49