

## AVALIAÇÃO DE *Staphylococcus* COAGULASE POSITIVA EM EMBUTIDO CARNEO ELABORADO COM ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO (*Thymus vulgaris*)

BRUNA TIMM GONÇALVES<sup>1</sup>; RAFAELA SILVA DA ROSA<sup>2</sup>; LETÍCIA ZARNOTT LAGES<sup>3</sup>; RITA DE CASSIA DOS SANTOS DA CONCEIÇÃO<sup>4</sup>; CARLA ROSANE BARBOZA MENDONÇA<sup>5</sup>; ELIEZER AVILA GANDRA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC/CNPq, Laboratório de Ciências dos Alimentos e Biologia Molecular (LACABIM), Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – [bruhtimm@gmail.com](mailto:bruhtimm@gmail.com)

<sup>2</sup>Bolsista PVIP/UFPel, LACABIM – [rafasilvarosa1@gmail.com](mailto:rafasilvarosa1@gmail.com)

<sup>3</sup>LACABIM, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos (PPGNA), UFPel – [leticiazarnott@hotmail.com](mailto:leticiazarnott@hotmail.com)

<sup>4</sup>Faculdade de Veterinária, UFPel - [ritinhaconceicao@hotmail.com](mailto:ritinhaconceicao@hotmail.com)

<sup>5</sup>Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), UFPel – [carlaufpel@hotmail.com](mailto:carlaufpel@hotmail.com)

<sup>6</sup>LACABIM, PPGNA, CCQFA, UFPel – [gandraea@hotmail.com](mailto:gandraea@hotmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O uso de conservantes sintéticos e sua substituição por alternativas naturais tem se tornado uma grande preocupação para a indústria de alimentos (VIUDA-MARTOS et al., 2008); nota-se assim, um interesse em agentes antimicrobianos naturais que possam prolongar a vida de prateleira de produtos e combater microrganismos patogênicos. Neste contexto, a utilização de óleos essenciais (OE) demonstra-se como uma alternativa que vem sendo explorada especialmente para produtos cárneos. A atividade antimicrobiana de OE de condimentos possui muitas aplicações, incluindo conservação de alimentos crus e processados (MARTUCCI et al., 2015).

Esses OE são ricos em diferentes compostos, como terpenos e fenilpropanoides que podem melhorar a qualidade dos alimentos através de diminuição do crescimento microbiano (KIN et al., 2013), além de conferir propriedades sensoriais e apresentarem baixa toxicidade em relação aos conservantes sintéticos (SADEGHI et al., 2015). Assim nota-se o OE de tomilho (*Thymus vulgaris*), que já possui aplicação como condimento aromatizante em alimentos, podendo também ser utilizado como um aditivo natural, individualmente ou associado a outros tratamentos, em virtude do seu potencial antimicrobiano já comprovado (HAN et al., 2015; HYUN et al., 2015; JAYASENA, JO, 2013; KARABAGIAS et al., 2011; KOSTAKI et al., 2009).

Diante deste contexto, o objetivo do trabalho trata-se da avaliação do potencial inibitório de OE de tomilho em diferentes concentrações de aplicação frente bactérias do grupo dos *Staphylococcus* coagulase positiva quando aplicado diretamente em um embutido cárneo, visando ainda, redução parcial ou total do conservante nitrito de sódio.

### 2. METODOLOGIA

Utilizou-se OE de tomilho branco (*Thymus vulgaris*), adquirido da empresa Ferquima, Indústria e Comércio de Óleos Essenciais.

#### 2.1 Preparação do embutido cárneo

Utilizou-se como formulação padrão de tratamento 77,5% de carne bovina, 12% de gordura suína (banha), 7,5% de água gelada e 3% de sal (NaCl). Higienizou-se todos os materiais, utensílios, bancadas e mãos com água, detergente e álcool 70%; após, com o auxílio de uma faca, a carne foi cortada em pedaços e moída em “cutter”. Em seguida, foram misturadas a carne, a banha, a água gelada e sal. Posterior, adicionou-se (quando previsto) o OE, o suco de

beterraba em pó e o conservante sal de cura (nitrato e nitrito de sódio). No final do preparo, o produto foi embutido em tripa natural suína e mantido sob refrigeração a 4°C por 15 dias. Na tabela 1 podem-se visualizar as formulações utilizadas.

**Tabela 1.** Ingredientes utilizados nas formulações dos embutidos cárneos em quatro tratamentos diferentes

Tratamento	Ingredientes
Controle	FPPC*
Tratamento 1	FPPC, com 100% do conservante sal de cura
Tratamento 2, 4, 6	FPPC, com 50% de conservante sal de cura, óleo essencial de tomilho** e 1% de suco de beterraba em pó
Tratamento 3, 5, 7	FPPC, com óleo essencial de tomilho** e 1% de suco de beterraba em pó

\* FPPC – Formulação padrão do produto cárneo

\*\* Foi utilizado o óleo essencial de tomilho nas concentrações de 0,95, 0,0095 e 0,00095%

Os produtos foram mantidos em refrigeração (<4°C) por até 15 dias.

## 2.2 Enumeração de *Staphylococcus coagulase positiva*

Para avaliar se as amostras de OE apresentaram atividade antimicrobiana, realizou-se enumeração de *Staphylococcus coagulase positiva* (ECP) em 3 tempos distintos: 1, 7 e 15 dias. Para isto, foram retiradas 25 g de cada uma das formulações dos produtos cárneos, homogeneizados com 225 mL de água peptonada estéril. Em seguida, foram realizadas diluições seriadas até 1:10000 ( $10^{-4}$ ) com água peptonada estéril. Após a diluição foram retirados 0,1 mL da solução e transferidas para placas de Petri contendo ágar Baird-Parker, espalhadas com auxílio de uma alça de Drigalski e incubadas por até 48 h a 37°C. A contagem manual das colônias bacterianas foi realizada após 48 h de incubação e os resultados foram expressos em UFC.g<sup>-1</sup>.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados encontrados para avaliação da adição de OE de tomilho em diferentes concentrações em embutido cárneo como alimentos teste em 3 tempos distintos (1, 7 e 15 dias) encontra-se descritos nas tabelas abaixo.

**Tabela 2.** Enumeração de *Staphylococcus coagulase positiva* em 3 tempos distintos utilizando o óleo essencial de tomilho na concentração de 0,00095%

<sup>1</sup> ECP	<sup>2</sup> Controle (UFC/g)	<sup>3</sup> Tratamento 1 (UFC/g)	<sup>4</sup> Tratamento 2 (UFC/g)	<sup>5</sup> Tratamento 3 (UFC/g)
<b>Tempo 1</b>	8,2 x 10 <sup>3</sup>	3,1 x 10 <sup>3</sup>	1,46 x 10 <sup>3</sup>	2,63 x 10 <sup>3</sup>
<b>Tempo 2</b>	9 x 10 <sup>5</sup>	2,66 x 10 <sup>3</sup>	2,8 x 10 <sup>4</sup>	1,18 x 10 <sup>4</sup>
<b>Tempo 3</b>	5,03 x 10 <sup>5</sup>	2,6 x 10 <sup>3</sup>	3,43 x 10 <sup>4</sup>	2,41 x 10 <sup>4</sup>

<sup>1</sup> - *Staphylococcus coagulase positiva*

<sup>2</sup> Controle - Formulação padrão do produto cárneo

<sup>3</sup> Tratamento 1 - Formulação padrão do produto cárneo, com 100% do conservante sal de cura

<sup>4</sup> Tratamento 2 - Formulação padrão do produto cárneo, 50% de conservante sal de cura, óleo essencial de tomilho na concentração de 0,00095% e 1% de suco de beterraba em pó

<sup>5</sup> Tratamento 3 - Formulação padrão do produto cárneo, óleo essencial de tomilho na concentração de 0,00095% e 1% de suco de beterraba em pó

Primeiramente, foi realizada uma análise para verificar a influência das variáveis conservante e OE de tomilho nas amostras nos três tempos propostos e, para a contagem de ECP com concentração de OE de tomilho de 0,00095% (Tabela 2), verificou-se que as contagens do tempo 1 se diferenciaram significativamente ( $p < 0,05$ ) das contagens do tempo 3, e as contagens do tempo 2 não apresentaram diferenças significativas em relação aos demais tempos.

Em relação à presença de conservante verificou-se que as amostras com a dose especificada de conservante (100%) se diferenciaram significativamente ( $p < 0,05$ ) das amostras controle e das amostras sem conservante e com OE e, já as amostras com metade do conservante e com OE não se diferenciaram significativamente ( $p > 0,05$ ) nem das amostras com conservante nem das amostras sem conservante e com OE. Em relação às amostras somente com OE verificou-se contagens inferiores ( $p < 0,05$ ) em relação a amostra controle nos tempos 2 e 3.

**Tabela 3.** Enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva em 3 tempos distintos utilizando o óleo essencial de tomilho na concentração de 0,0095%

<sup>1</sup> ECP	<sup>2</sup> Controle (UFC/g)	<sup>3</sup> Tratamento 1 (UFC/g)	<sup>4</sup> Tratamento 4 (UFC/g)	<sup>5</sup> Tratamento 5 (UFC/g)
<b>Tempo 1</b>	$8,2 \times 10^3$	$3,1 \times 10^3$	$2,93 \times 10^3$	$3,16 \times 10^3$
<b>Tempo 2</b>	$9 \times 10^5$	$2,66 \times 10^3$	$1,63 \times 10^4$	$1,05 \times 10^4$
<b>Tempo 3</b>	$5,03 \times 10^5$	$2,6 \times 10^3$	$2,31 \times 10^4$	$1,02 \times 10^4$

<sup>1</sup> - *Staphylococcus* coagulase positiva

<sup>2</sup> Controle - Formulação padrão do produto cárneo

<sup>3</sup> Tratamento 1 - Formulação padrão do produto cárneo, com 100% do conservante sal de cura

<sup>4</sup> Tratamento 2 - Formulação padrão do produto cárneo, 50% de conservante sal de cura, óleo essencial de tomilho na concentração de 0,0095% e 1% de suco de beterraba em pó

<sup>5</sup> Tratamento 3 - Formulação padrão do produto cárneo, óleo essencial de tomilho na concentração de 0,0095% e 1% de suco de beterraba em pó

Neste momento, nas amostras com conservante e OE de tomilho na concentração de 0,0095%, apresentado na Tabela 3, verificou-se que as contagens do tempo 1 se diferenciaram significativamente ( $p < 0,05$ ) do tempo 3; já no tempo 2, novamente não se diferenciaram significativamente ( $p > 0,05$ ) nem do tempo 1 nem do tempo 3.

Em relação à presença de conservante verificou-se que as amostras com conservante se diferenciaram significativamente ( $p < 0,05$ ) das amostras controle e das sem conservante e com OE. As amostras com metade do conservante e com OE não se diferenciaram significativamente ( $p > 0,05$ ) nem das amostras com conservante nem das amostras sem conservante e com OE. Em relação as amostras somente com OE, verificou-se novamente nos tempos 2 e 3 que as mesmas apresentaram menores contagens que as amostras controle.

**Tabela 4.** Enumeração de *Staphylococcus* coagulase positiva em 3 tempos distintos utilizando o óleo essencial de tomilho na concentração de 0,95%

<sup>1</sup> ECP	<sup>2</sup> Controle (UFC/g)	<sup>3</sup> Tratamento 1 (UFC/g)	<sup>4</sup> Tratamento 6 (UFC/g)	<sup>5</sup> Tratamento 7 (UFC/g)
<b>Tempo 1</b>	$8,2 \times 10^3$	$3,1 \times 10^3$	$1,76 \times 10^3$	$2,33 \times 10^3$
<b>Tempo 2</b>	$9 \times 10^5$	$2,66 \times 10^3$	$1,29 \times 10^4$	$1,51 \times 10^4$
<b>Tempo 3</b>	$5,03 \times 10^5$	$2,6 \times 10^3$	$1,15 \times 10^4$	$1,27 \times 10^4$

<sup>1</sup> - *Staphylococcus* coagulase positiva

<sup>2</sup> Controle - Formulação padrão do produto cárneo

<sup>3</sup> Tratamento 1 - Formulação padrão do produto cárneo, com 100% do conservante sal de cura

<sup>4</sup> Tratamento 2 - Formulação padrão do produto cárneo, 50% de conservante sal de cura, óleo essencial de tomilho na concentração de 0,95% e 1% de suco de beterraba em pó

<sup>5</sup> Tratamento 3 - Formulação padrão do produto cárneo, óleo essencial de tomilho na concentração de 0,95% e 1% de suco de beterraba em pó

Na contagem de ECP com óleo essencial de tomilho na concentração de 0,95% (Tabela 4), verificou-se resultados similares aos anteriores: as contagens do tempo 1 se diferenciaram significativamente ( $p < 0,05$ ) do tempo 3 e o tempo 2 não se diferenciaram significativamente ( $p > 0,05$ ) nem do tempo 1 nem do tempo 3. Em relação à presença de conservante verificou-se que as amostras com conservante se diferenciaram significativamente ( $p < 0,05$ ) das amostras controle e sem conservante com OE; as amostras com metade do conservante e OE não se diferenciaram significativamente ( $p > 0,05$ ) das amostras com conservante. Portanto, neste caso, nota-se que a associação de metade do conservante com OE apresentou efeito similar a concentração recomendada de conservante.

#### 4. CONCLUSÕES

Pode-se concluir que o OE de tomilho apresentou efeito inibitório contra *Staphylococcus* coagulase positiva in situ em embutido cárneo em todas as concentrações avaliadas.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

HAN, J. H. et al. Microbial inhibition in mozzarella cheese using rosemary and thyme oils in combination with sodium diacetate. **Food Science and Biotechnology**, v. 24, n. 1, p. 75–84, 28 fev. 2015.

HYUN, J.-E. et al. Preservative effectiveness of essential oils in vapor phase combined with modified atmosphere packaging against spoilage bacteria on fresh cabbage. **Food Control**, v. 51, p. 307–313, maio 2015.

JAYASENA, D. D.; JO, C. Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 34, n. 2, p. 96–108, dez. 2013

KARABAGIAS, I.; BADEKA, A.; KONTOMINAS, M. G. Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. **Meat science**, v. 88, n. 1, p. 109–16, maio 2011.

KIN, S. J.; CHO, A. R.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. **Food Control**, 29 (1), 112-120. 2013.

KOSTAKI, M. et al. Combined effect of MAP and thyme essential oil on the microbiological, chemical and sensory attributes of organically aquacultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fillets. **Food microbiology**, v. 26, n. 5, p. 475–482, ago. 2009.

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

SADEGHI, Z. et al. Antioxidant activity and total phenolic content of *Boerhavia elegans* (choisy) grown in Baluchestan, Iran. **Avicenna Journal of Phytomedicine**. v. 5, n. 1, p. 1-9, 2015.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Chemical composition and antioxidant and anti-*Listeria* activities of essential oils obtained from some Egyptian plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 9063-9070, 2010a.