

27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

7º Simpósio de
Segurança Alimentar

Inovação com sustentabilidade

EFEITO DA ADIÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE TOMILHO SOBRE A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE HAMBURGUERES BOVINOS REFRIGERADOS

L. Cordeiro¹, M.S.R. Oliveira², W.S. Robazza³, A. C. Galvão⁴, A.R. Reis⁵, L.C.N. Henrique⁵

1- Discente Mestrado Acadêmico em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) - CEP: 89870-000 - Pinhalzinho - SC - Brasil, Telefone: (49) 2049-9599 - e-mail: (leticiacordeiro.mv@gmail.com)

2- Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos - Universidade Federal de Santa Maria, - CEP: 97105-900 - Santa Maria - RS - Brasil, Telefone: (55) 3220-8000 - e-mail: (marisilviadeoliveira@yahoo.com.br)

3- Docente Mestrado Acadêmico em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) - CEP: 89870-000 - Pinhalzinho - SC - Brasil, Telefone: (49) 2049-9599 - e-mail: (wrobazzi@yahoo.com.br)

4 - Docente Mestrado Acadêmico em Ciências e Tecnologia de Alimentos, Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC) - CEP: 89870-000 - Pinhalzinho - SC - Brasil, Telefone: (49) 2049-9599 - e-mail: (alessandro.galvao@udesc.br)

5- Acadêmicas dos Curso de Tecnologia em Alimentos- Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos - Universidade Federal de Santa Maria, - CEP: 97105-900 - Santa Maria - RS - Brasil, Telefone: (55) 3220-8000- e-mail: andrearareis@hotmail.com e lcarolh2008@gmail.com

RESUMO - A aplicação de compostos naturais oriundos de plantas a produtos cárneos pode garantir a segurança e a preservação contra a deterioração, aumentando o prazo de validade devido às propriedades antibacterianas e antioxidantes dos compostos. Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da adição de duas concentrações de óleo essencial tomilho (OET) (0,05% e 0,10%) como agente conservante de hambúrguer bovino armazenado a vácuo por 14 dias em temperatura de refrigeração. Foi realizada a contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios, e o modelo matemático de Baranyi & Roberts foi ajustado aos dados experimentais. Além disso, foi realizada análise de cor instrumental. As bactérias mesófilas cresceram mais lentamente quando OET foi adicionado aos hambúrgueres através da comparação dos valores da taxa máxima de crescimento específico (μ_{max}), o que indica um aumento da vida de prateleira. A concentração de 0,05% de OET foi a mais eficiente na conservação da cor dos hambúrgueres durante a armazenagem.

ABSTRACT - The addition of natural compounds from plants to meat products may assure food safety, preservation against deterioration, and shelf life extension due to the antibacterial and antioxidant properties of the compounds. This work evaluated the influence of the addition of thyme essential oil (0.05% and 0.10%) to preserve vacuum-packed beef patties for 14 days at refrigerated temperature. A total count of aerobic mesophilic microorganisms was conducted and the mathematical model by Baranyi & Roberts was fitted to the experimental data. Moreover, instrumental color analysis was performed. Mesophilic bacteria grew more slowly when OET was added to hamburgers as observed after comparison of the results obtained for the maximum specific growth rate (μ_{max}), indicating a shelf life extension. The addition of a concentration of 0.05% of OET was the most efficient in preserving the color of hamburgers during storage.

PALAVRAS-CHAVE: hambúrguer; óleo essencial de tomilho; atividade antibacteriana; conservação.

KEYWORDS: beef patties; Thyme essential oil; antibacterial activity; preservation.

REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



www.officeeventos.com.br



1. INTRODUÇÃO

Alimentos prontos para o consumo ou com menor tempo de preparo, de preço acessível e com qualidade vem ganhando espaço entre os consumidores. Os hambúrgueres estão entre estes alimentos sendo o de carne bovina o mais consumido entre os brasileiros (Neves, 2016).

A diminuição das qualidades organolépticas dos hambúrgueres ocorre de forma acelerada durante o armazenamento devido à atividade enzimática e o crescimento de bactérias como *Pseudomonas* spp., mesófilas aeróbicas, bactérias ácido-lácticas e Enterobactérias. Esta deterioração requer uma proteção contra esses danos e geralmente em suas formulações são acrescentados aditivos alimentares para o prolongamento da vida útil (Monteiro et al., 2010). Aditivos químicos com a função de preservação têm tido certa resistência por parte de alguns consumidores, o que tem levado a indústria alimentícia e pesquisadores a buscar alternativas, como o uso de compostos antimicrobianos naturais (Devlieghere et al., 2004).

Os óleos extraídos de plantas são constituídos por uma mistura complexa de compostos como alcaloides, flavonoides, isoflavonas, monoterpênos, ácidos fenólicos, carotenoides e aldeídos (Bakkali et al., 2008). Estas substâncias evidenciam o sabor e aroma dos produtos, além de apresentarem atividade antimicrobiana, antifúngica e antioxidante. O tomilho (*Thymus vulgaris*) é tradicionalmente usado como agente aromatizante em carne e produtos cárneos (Navabi et al., 2015). Em sua composição, foram identificados compostos importantes com ação antimicrobiana, como o carvacol, borneol e timol (Hammer et al., 1999; Oussalah et al., 2007).

Para que um agente conservante possa ser empregado em um alimento, este composto deve ser seguro, fácil de incorporar e efetivo em baixas concentrações (Milani et al., 2012). Portanto, este trabalho pretende avaliar a ação do óleo essencial de tomilho (OET) aplicado em hambúrgueres bovinos refrigerados frente a deterioração verificando como o óleo afeta a vida útil dos hambúrgueres de modo a fornecer produtos com segurança e qualidade para o consumidor.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparação do Hambúrguer

Foram adquiridos 4 quilos de carne no comércio local da cidade de Santa Maria-RS para a confecção dos hambúrgueres, sendo que os experimentos foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria. Após a moagem da carne com disco 5mm, a carne foi levada a misturadeira com os demais ingredientes por 5 minutos para obtenção de massa homogênea. A formulação utilizada para a elaboração dos hambúrgueres descrita por Terra (1998), com as seguintes modificações: carne ponta de peito bovina, 1,5% de sal, 0,1% de pimenta branca moída, 0,1% de alho em pó, 0,1% de cebola em pó e 0,2% de glutamato monossódico.

Foram elaborados 3 tratamentos: controle (0% de óleo essencial), 0,05% de OET e 0,10% de OET. O óleo essencial utilizado foi obtido por método de destilação de arraste de vapor a partir das folhas secas de tomilho, de acordo com Chemat e Boutekedjiret (2015), no laboratório ApTher – Termofísica Aplicada da UDESC – Pinhalzinho – SC. Concluída a mistura, a massa foi enformada em equipamento próprio para hambúrguer, sendo as amostras embaladas a vácuo e armazenadas em refrigeração à temperatura de 4 °C.

2.2 Análises

Para avaliação da deterioração do produto, foi realizada a contagem total de microrganismos mesófilos aeróbicos nos dias 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 14 de armazenamento. Alíquotas de 10 g das amostras de hambúrguer foram retiradas e transferidas para saco plástico estéril de *Stomacher*, adicionadas de 90 ml de água peptonada 0,1% estéril e homogeneizadas (*Stomacher* 400) por 2 minutos. As diluições seriadas subsequentes foram preparadas com água peptonada 0,1% estéril e para a contagem bacteriana foi utilizado o método de inoculação por plaqueamento em profundidade (ISO 4833-1:2013).

A avaliação objetiva da cor foi realizada através de espectrofotômetro (KONICA MINOLTA CM-700D, Osaka, Japão), pelos parâmetros L* (luminosidade), a* (intensidade de vermelho) e b* (intensidade de amarelo), com 6 medições em locais diferentes da amostra, após 0, 6 e 13 dias de armazenamento. Além disso, foram calculados os parâmetros: croma (C*) e ângulo de Hue (h°), os quais são dados pelas Equações 1 e 2, respectivamente.

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

$$h^\circ = \arctg\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (2)$$

2.3 Análise Estatística

Para cada tratamento, o modelo de Baranyi & Roberts (Baranyi et al., 1995) (BAR) (Equação 3) foi ajustado aos dados experimentais de contagem microbiana no *software R* v. 3.5.3.

$$\log N(t) = \log(N_{\max}) + \log\left[\left(\frac{-1 + e^{\mu_{\max}\lambda} + e^{\mu_{\max}t}}{-1 + e^{\mu_{\max}t} + e^{\mu_{\max}\lambda \cdot \frac{\log(N_{\max})}{\log(N_0)}}}\right)\right] \quad (3)$$

onde N(t) representa a população bacteriana no instante t; N₀ representa a população bacteriana inicial; N_{max} corresponde à população bacteriana máxima; μ_{max} é a taxa máxima de crescimento específico e A é o crescimento logarítmico.

Os resultados de cor obtidos das análises serão avaliados estatisticamente pelo Teste de Tukey, através da análise de variância (ANOVA), usando o *software R* 3.5.3 para detectar a diferença significativa entre as amostras (p<0.05), em nível de confiança de 95%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os parâmetros cinéticos de crescimento das bactérias mesófilas aeróbicas estimados pelos modelos de Baranyi-Roberts (BAR) para os três tratamentos.

Tabela 1 – Parâmetros cinéticos de crescimento de mesófilos aeróbicos estimados pelos modelos de Baranyi-Roberts (BAR)

Tratamento	μ _{max} (dias ⁻¹)	y ₀ (log UFC/g)	y _{max} (log UFC/g)
Controle	1,536 (± 0,331)	4,964 (± 0,242)	7,699 (± 0,134)
0,05% OET	0,952 (± 0,437)	5,306 (± 0,499)	7,911 (± 0,396)
0,10% OET	0,957 (± 0,255)	5,225 (± 0,218)	7,237 (± 0,138)

*(± erro-padrão)

Fonte: Elaborada pelos autores (2020)

A microbiota da carne é composta por microrganismos encontrados na superfície e/ou no interior do animal. As condições ambientais, as operações de processamento e a manipulação têm uma grande influência sobre os tipos e quantidade de microrganismos encontrados nos produtos cárneos (Kinsman et al., 1994). De acordo com Cardoso et al. (2005), as bactérias aeróbias mesófilas podem ser usadas como indicadores de qualidade microbiológica, já que sua presença em grandes quantidades pode indicar a contaminação da matéria prima e/ou no processamento.

A aplicação de óleos essenciais das plantas tem sido estudada extensivamente contra microrganismos deteriorantes (Dunn et al., 2016), podendo então ser adicionado aos produtos cárneos, como hambúrgueres, para aumentar a conservação e inibir ou diminuir a atividade microbiana (Asbahani et al., 2015).

A análise dos valores de μ_{\max} que representa a taxa de crescimento específico, apresentados na Tabela 1 indicam que as bactérias mesófilas cresceram mais lentamente quando OET foi adicionado aos hambúrgueres quando comparado ao tratamento controle, levando a uma maior extensão da vida de prateleira. A partir dos resultados obtidos, esta extensão da vida útil foi independente da concentração de OET adicionada.

Em outro estudo, o óleo de tomilho foi incorporado à película comestível de frangos, e observou-se a diminuição da contagem microbiana e o aumento da vida útil do produto (Soni et al., 2018). E ainda, segundo Boskovic et al. (2017) o OET mostrou-se eficiente na inibição de *Salmonella* spp. em até 4 log UFC/g de carne suína durante 15 dias de armazenamento.

Sua eficiência depende de diversos fatores como a difusão nas matrizes sólidas, solubilidade e interação dos componentes do alimento. Não houve diferença significativa entre as diferentes concentrações de OET utilizadas neste experimento. Este resultado pode ser atribuído às baixas concentrações de óleo empregadas na formulação total do produto. Estes valores foram utilizados de forma a não afetar de forma significativa os atributos de qualidade sensoriais do hambúrguer. Também deve-se considerar a quantidade de cada composto antimicrobiano na composição do óleo essencial, como o carvacrol e o timol (Solomakos et al., 2008).

Além do caráter microbiológico as características sensoriais dos produtos cárneos como cor, aroma, frescor e palatabilidade são muito importantes para a aceitação e preferência do consumidor. Sendo a primeira característica apreciada pelo consumidor, a cor está envolvida com a aparência visual do produto, sendo afetada pela composição química da carne. A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos para os parâmetros de cor para cada tratamento após 0, 6 e 13 dias de armazenamento, respectivamente.

Tabela 2. Variações nos parâmetros L^* , a^* , b^* , C^* e h° relacionados à coloração dos hambúrgueres para as amostras Controle, 0,05% OET e 0,10% OET nos dias 0, 6 e 13 de armazenamento a 4°C.

	Tempo armazenamento (dias)	Controle	0,05% OET	0,10% OET
L^*	00	49 (± 5) ^{aA}	49 (± 2) ^{aA}	49 (± 2) ^{aA}
	06	48 (± 3) ^{aA}	51 (± 3) ^{aA}	50 (± 2) ^{aA}
	13	51 (± 3) ^{aA}	48 (± 2) ^{aA}	49 (± 2) ^{aA}
a^*	00	11 (± 2) ^{aB}	10 ($\pm 0,774$) ^{aA}	10 ($\pm 0,634$) ^{aC}
	06	6 (± 1) ^{bA}	9 (± 1) ^{aA}	8 ($\pm 0,964$) ^{abB}
	13	6 ($\pm 0,935$) ^{ba}	9 (± 2) ^{aA}	6 (± 1) ^{ba}
b^*	00	15 (± 1) ^{aB}	4 (± 1) ^{aA}	15 ($\pm 0,655$) ^{aA}
	06	11 (± 3) ^{ba}	15 (± 1) ^{aA}	14 (± 1) ^{abA}
	13	16 (± 1) ^{aB}	15 (± 1) ^{aA}	15 ($\pm 0,793$) ^{aA}
C^*	00	19 (± 2) ^{aB}	17 (± 1) ^{aA}	18 ($\pm 0,695$) ^{abB}
	06	13 (± 2) ^{ba}	17 (± 1) ^{aA}	16 (± 1) ^{aA}
	13	17 (± 1) ^{aB}	17 (± 1) ^{aA}	16 (± 1) ^{aA}
hue ^o (graus)	00	53 (± 7) ^{ab}	54 (± 3) ^{aA}	54 (± 1) ^{aC}
	06	60 (± 8) ^{aAB}	58 (± 3) ^{aA}	60 (± 4) ^{aA}
	13	69 (± 4) ^{ba}	58 (± 4) ^{aA}	65 (± 3) ^{bb}

*Os resultados são relatados como a média \pm erro-padrão de seis repetições. Valores para um dado parâmetro seguidos por mesma letra minúscula em cada linha não apresentam diferenças significativas no nível de confiança de 95% ($p < 0.05$) para cada tratamento (tempo de armazenamento fixo). Valores para um dado parâmetro seguidos por mesma letra maiúscula em cada coluna não apresentam diferenças significativas no nível de confiança de 95% ($p < 0.05$) entre os tempos de armazenamento de cada amostra (tratamento fixo) para cada parâmetro de cor.

Fonte: Elaborado pelos autores (2020).

Os valores de L^* e b^* não diferiram significativamente ($p > 0.05$) entre as amostras durante o tempo de armazenagem. No dia 0 as amostras diferiram ($p < 0.05$) quanto à vermelhidão, caracterizando um hamburger



controle mais avermelhado com índice a^* de 11,440 ($\pm 2,494$) do que a amostra com maior teor de óleo de tomilho (10,735 \pm 0,634).

O parâmetro a^* também apresentou diferença significativa ($p < 0.05$) em relação ao tempo de estocagem do produto para as amostras controle e 0,10% OET indicando um esverdeamento do hambúrguer com o passar do tempo. Camo et al. (2008) observaram que valores de a^* acima de 10 indicam cor vermelho vivo, e assim como o estudo de Coskun et al. (2014), que avaliou carne moída embalada em filme com óleo de tomilho, os valores de a^* no presente estudo também mostraram valores abaixo de 10 decorrido o tempo de armazenamento.

O índice de C^* indica saturação, diretamente ligada à concentração do elemento corante, e o ângulo de Hue é considerado o atributo qualitativo de cor e graficamente é considerado um ângulo de 90° como avermelhado. Não houve diferença significativa ($p > 0.05$) entre as amostras, mas houve uma diminuição dos índices C^* e ângulo de Hue com o tempo de estocagem da amostra Controle e 0,10% OET, devido à diminuição do parâmetro a^* .

A amostra com concentração de óleo essencial de tomilho de 0,05% não diferiu significativamente ($p > 0.05$) para nenhum parâmetro ao longo da estocagem, concluindo que essa concentração foi eficiente na conservação da cor do hambúrguer em 13 dias de refrigeração.

4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram a eficiência da adição de óleo essencial de tomilho para prolongar a vida útil de hambúrgueres refrigerados embalados a vácuo em relação à amostra não tratada. Através do modelo matemático BAR foi possível identificar o crescimento mais lento de bactérias mesófilas aeróbicas nas amostras contendo OET e uma conservação da cor ao longo do armazenamento na amostra com 0,05% de OET. Essas características conservantes devem-se pelo fato de o óleo essencial de tomilho possuir em sua composição constituintes como carvacrol e timol que geram ação antibacteriana e antioxidante.

Para a indústria das carnes o principal desafio é garantir que o frescor dos produtos permaneça estável durante toda a vida de prateleira, com maior segurança e menor custo. Como observado, a atividade antimicrobiana do óleo de tomilho sugere o uso potencial deste óleo como uma alternativa aos antimicrobianos e conservantes sintéticos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Asbahani, A. El; Miladi, K.; Badri, W.; Sala, M.; Ait Addi, E. H.; Casabianca, H.; El Mousadik, A.; Hartmann, D.; Jilale, A.; Renaud, F. N.; Elaissari, A. (2015). Essential oils: from extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483 (1–2), 220–243.

Bakkali, F.; Averbeck, S.; Averbeck, D.; Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – a review. *Food Chemical Toxicological*, 46, 446–475.

Baranyi, J.; Robinson, T.; Kaloti, A.; Mackey, B. (1995). Predicting growth of *Brochothrix thermosphacta* at changing temperature. *International Journal of Food Microbiology*. 27, 61–75.

Boskovic, M.; Djordjevic, J.; Ivanovic, J.; Janjic, J.; Zdravkovic, N.; Glisic, M.; Glamoclija, N.; Baltic, B.; Djordjevic, V.; Baltic, M. (2017). Inhibition of *Salmonella* by thyme essential oil and its effect on microbiological and sensory properties of minced pork meat packaged under vacuum and modified atmosphere. *International Journal of Food Microbiology*. 258, 58–67.

Camo, J.; Beltrán, J.A.; Roncalés, P. (2008). Extension of the display life of lamb with an antioxidant active packaging. *Meat Science*. 80, 1086–1091.



- Cardoso, A. L. S. P.; Castro, A. G. M.; Tessari, E. N. C.; Baldassi, L.; Pineiro, E. S. (2005). Pesquisa de *Salmonella* spp coliformes totais, coliformes fecais, mesófilos, em carcaças e cortes de frango. *Higiene Alimentar*. 19 (128), 144-150.
- Chemat, F.; Boutekedjiret, C. (2015). Extraction: Steam Distillation. In Reference Module in Chemistry, *Molecular Sciences and Chemical Engineering*.
- Coşkun, B. K.; Çalikoğlu, E.; Emiroğlu, K. Z.; Candoğan, K. (2014). Antioxidant active packaging with soy edible films and oregano or thyme essential oils for oxidative stability of ground beef patties. *Journal of Food Quality*. 37(3), 203-212.
- Devlieghere, F.; Vermeulen, A.; Debevere, J. (2004). Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*. 21, 703–714.
- Dunn, L. L.; Davidson, P. M.; Critzer, F. J. (2016). Antimicrobial efficacy of an array of essential oils against lactic acid bacteria. *Journal of Food Science*. 81(2), M438–M444.
- Hammer, K. A., Carson, C. F.; Riley, T. V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*. 86, 985–990.
- Kinsman, D. M.; Kotula, A. W. And Breidenstein, B. C. (1994). Muscle Foods. *Meat, Poultry and Seafood Technology*. New York: Chapman & Hall.
- Milani, L. I. G.; Terra, N. N.; Fries, L. L. M.; Kubota, E. H. (2012). Effect of the extract of persimmon (*Diospyros kaki L.*) cv. 'Rama Forte' and rosemary oily extract (*Rosmarinus officinalis L.*) on the sensory characteristics and color stability of frozen beef burgers. *Semina: Ciências Agrárias*. 33 (3), 1085–1094.
- Monteiro, C.A.; Levy, R.B.; Claro, R.M.; Castro, I.R.R.; Cannon, G. (2010). A new classification of foods based on the extent and purpose of their processing. *Cad. Saúde Pública*, São Paulo, 26(11), 2039-2049.
- Navabi, S. M.; Marchese, A.; Izadi, M.; Curti, V.; Daglia, M.; Navabi, S. F. (2015). Plants belonging to the genus *Thymus* as antibacterial agents: from farm to pharmacy. *Food Chemistry*, 173, 339 – 347.
- Neves, L. C. M. Oferta de alimentos ultra processados na Universidade de Brasília.
- Oussalah, M.; Caillet, S.; Saucier, L.; Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *S.aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18, 14–420.
- Solomakos, N. Govaris, A., Koidis, P., Botsoglou, N. (2008). The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. *Food Microbiology*, 25, 120–127.
- Soni, A.; Gurunathan, K.; Mendiratta, S. K.; Talukder, S.; Jaiswal, R. K.; Sarma, H. (2018). Effect of essential oils incorporated edible film on quality and storage stability of chicken patties at refrigeration temperature ($4 \pm 1^\circ\text{C}$). *Journal of Food Science and Technology*, 55(9), 3538-3546.
- Terra, N. N. (1998). *Apontamentos de Tecnologia de Carnes*. São Leopoldo: UNISINOS, 216 p.