



Efeito do Uso de Óleos Essenciais na Qualidade da Couve Minimamente Processada



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Agroindústria Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
208**

**Efeito do Uso de Óleos Essenciais na
Qualidade da Couve Minimamente Processada**

Terezinha Feitosa Machado
Deborah dos Santos Garruti
Márcia Régia de Souza da Silveira
Monalisa de Sousa Varela
Carlos Alberto de Jesus Filho

Embrapa Agroindústria Tropical
Fortaleza, CE
2020

Unidade responsável pelo conteúdo e edição:

Embrapa Agroindústria Tropical
Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici
CEP 60511-110 Fortaleza, CE
Fone: (85) 3391-7100
Fax: (85) 3391-7109
www.embrapa.br/agroindustria-tropical
www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê Local de Publicações
da Embrapa Agroindústria Tropical

Presidente
Gustavo Adolfo Saavedra Pinto

Secretária-executiva
Celli Rodrigues Muniz

Secretária-administrativa
Eveline de Castro Menezes

Membros
*Marlos Alves Bezerra, Ana Cristina Portugal
Pinto de Carvalho, Deborah dos Santos Garruti,
Dheyne Silva Melo, Ana Iraidy Santa Brigida,
Eliana Sousa Ximendes, Nívia da Silva Dias*

Revisão de texto
José Cesamildo Cruz Magalhães

Normalização bibliográfica
Rita de Cassia Costa Cid

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
José Cesamildo Cruz Magalhães

Fotos da capa
Monalisa de Sousa Varela

1ª edição
On-line (2020)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Agroindústria Tropical

Efeito do uso de óleos essenciais na qualidade da couve minimamente processada / Terezinha Feitosa Machado... [et al.]. – Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2020.

21 p. : il. ; 16 cm x 22 cm – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 1679-6543; 208).

Publicação disponibilizada on-line no formato PDF.

1. *Brassica oleracea*. 2. Qualidade. 3. Segurança. I. Machado, Terezinha Feitosa. II. Garruti, Deborah dos Santos. III. Silveira, Márcia Régia de Souza da. IV. Varela, Monalisa de Sousa. V. Jesus Filho, Carlos Alberto de. VI. Série.

CDD 635.34

Sumário

Resumo.....	4
Abstract.....	6
Introdução.....	7
Material e Métodos.....	8
Resultados e Discussão.....	11
Conclusões.....	17
Referências.....	17

Efeito do Uso de Óleos Essenciais na Qualidade da Couve Minimamente Processada¹

Terezinha Feitosa Machado¹

Deborah dos Santos Garruti²

Márcia Régia de Souza da Silveira³

Monalisa de Sousa Varela⁴

Carlos Alberto de Jesus Filho⁵

Resumo - Hortaliças minimamente processadas são suscetíveis à proliferação microbiana e a uma rápida perda de qualidade sensorial. Com o objetivo de aumentar o prazo de validade e a manutenção dos parâmetros de qualidade da couve minimamente processada, foi avaliado o uso dos óleos essenciais de capim-limão e alecrim-pimenta como alternativas naturais ao cloro na etapa de higienização. As amostras foram mantidas em contato com as soluções sanitizantes por 10 min, e a eficácia do agente sanitizante foi avaliada com base no número de reduções decimais de contagens microbiana. Os resultados mostraram que as amostras sanitizadas avaliadas neste estudo apresentaram condições higiênicas satisfatórias. E, embora tenha-se observado eficácia do tratamento com OEs no controle da microbiota

¹ Engenheira de Alimentos, doutora em Bioquímica, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE

² Engenheira de Alimentos, doutora em Ciências de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE

³ Farmacêutica-Bioquímica, mestra em Tecnologia de Alimentos, analista da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE

⁴ Graduanda de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE

⁵ Graduando de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE

nativa da couve, as couves tratadas com OEs tiveram baixa aceitabilidade, não sendo um tratamento recomendado nas concentrações testadas.

Termos para indexação: *Brassica oleracea*, qualidade, segurança.

Effect of the Use of Essential Oils on the Quality of Minimally Processed Kale

Abstract - Minimally processed vegetables are susceptible to microbial proliferation and to a fast loss of sensory quality. In order to increase the shelf life and maintenance of the quality parameters of minimally processed kale, the use of essential oils of lemongrass and rosemary pepper was evaluated as natural alternatives to chlorine in the sanitation stage. The samples were kept in contact with the sanitizing solutions for 10 min and the efficacy of the sanitizing agent was evaluated based on the number of decimal reductions in microbial counts. The results showed that the sanitizing solutions evaluated in this study presented satisfactory hygienic conditions. And, although it has been observed the efficacy of the treatment with OEs in the control of the native microbiota of the cabbage, the cabbages treated with OEs had low acceptability, not being a recommended treatment in the tested concentrations.

Index terms: *Brassica oleracea*, quality, security.

Introdução

O consumo de vegetais minimamente processados (VMP) aumentou significativamente nos últimos anos, porque essa categoria de produtos atende às necessidades de conveniência e saúde dos consumidores. No entanto, as hortaliças minimamente processadas deterioram-se mais rapidamente do que as matérias-primas não processadas, principalmente pelos danos causados nas etapas do processamento, tornando-as mais suscetíveis à proliferação microbiana (Ma et al., 2017; Siroli et al., 2014; Taban; Halkman, 2011). Além disso, a superfície exposta após o processamento mínimo também beneficia o crescimento de alguns microrganismos patogênicos. O aumento de casos em surtos de doenças transmitidas por alimentos relatados nos últimos anos, associados a produtos frescos, causou sérias preocupações em relação à saúde pública (Callejón et al., 2015; Fernández et al., 2018; Sant'ana et al., 2014; Stephan et al., 2015). Na cadeia de produção de VMP, a desinfecção é o único passo em que o número de microrganismos pode ser reduzido, mas essa etapa não garante que os produtos estejam livres de patógenos (Allende et al., 2006; São José; Vanetti, 2012).

Os processos de desinfecção que incorporam cloro são frequentemente aplicados a vegetais frescos para melhorar os perfis de segurança e o prazo de validade, mas seu uso tem limitações e desvantagens, como eficácia antimicrobiana reduzida na concentração geralmente empregada (50 – 200 ppm) e a possível formação de compostos clorados cancerígenos (trihalometanos) quando há compostos orgânicos na água (Barry-Ryan; Burke, 2012; Bhargava et al., 2015), razão pela qual seu uso é proibido em alguns países europeus, como Alemanha, Bélgica, Holanda e Suécia (Gil et al., 2009; Rico et al., 2007). Com a crescente preocupação com a eficácia e a segurança toxicológica de produtos químicos e conservantes sintéticos, a demanda por alternativas naturais aumentou.

Uma abordagem interessante com grande potencial para superar essas desvantagens é a biopreservação, pela qual a segurança dos VMP é aumentada pelo uso de compostos naturais com propriedades antimicrobianas (Azeredo et al., 2011). Entre os antimicrobianos naturais, os óleos essenciais (OEs) ganharam muita atenção nos últimos anos por suas atividades antibacteriana, antiviral e antifúngica associadas aos polifenóis presentes

(Bansal et al., 2013; Calo et al., 2015). Além disso, os OEs e alguns de seus componentes mais ativos são geralmente reconhecidos como seguros pela *Food and Drug Administration* (FDA) e são permitidos como aditivos alimentares pela Autoridade Européia de Segurança Alimentar (EFSA) (Siroli et al., 2017). Nos últimos anos, o uso dessas moléculas na lavagem de VMP tem sido amplamente estudado, com excelentes resultados (Gutierrez et al., 2009; Wulfkuehler et al., 2013; Patrignani et al., 2015; Siroli et al., 2015). Além das preocupações com segurança microbiológica, outras questões relacionadas à qualidade dos produtos frescos incluem parâmetros sensoriais como aparência, odor, sabor e textura, que devem ser levados em conta ao considerar técnicas de descontaminação, uma vez que são cruciais para a aceitação pelo consumidor (Cunha et al., 2018; Oliveira et al., 2013).

Em estudos anteriores, observou-se que o OE de capim-limão apresentou atividade antimicrobiana contra *Salmonella* Tiphymurium e *Listeria monocytogenes* em amostras de repolho intencionalmente contaminadas (Machado et al., 2013; 2014) e, recentemente, foi demonstrada a eficácia antimicrobiana in vitro do OE de capim-limão (Miranda et al., 2018). Nesse contexto, com a intenção de dar continuidade aos estudos acima citados, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia dos tratamentos de desinfecção com OEs de capim-limão e alecrim-pimenta sobre a microbiota natural da couve e comparar os efeitos desses tratamentos com os do processo de sanitização do cloro. Além disso, estudos sensoriais foram realizados para avaliar o impacto do uso dos óleos no sabor e na aceitabilidade do produto.

Material e Métodos

Materiais

Amostras de couve (*Brassica oleracea* L.) foram adquiridas no dia do experimento em um ponto comercial em Fortaleza, CE. Os OEs de folhas de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) e alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham) foram obtidos de Lohas Produtos Naturais e Orgânicos (Joinville, SC). O cloro foi obtido a partir de uma solução comercial contendo 2,0 a 2,5% de hipoclorito de sódio (Q'Boa®, Osasco, SP).

Tratamentos de desinfecção

Para preparar a couve, foram retirados os talos centrais das folhas utilizando-se uma faca inoxidável. Em seguida, as folhas foram enroladas em forma de charuto e cortadas em fatias de aproximadamente 1 cm. As soluções antimicrobianas foram preparadas da seguinte forma: (I) água filtrada com hipoclorito de sódio (200 ppm de cloro livre); (II) água filtrada com 1,0% de etanol e OE de capim-limão numa concentração de 750 ppm; e (III) água filtrada com 1,0% de etanol e OE de alecrim-pimenta numa concentração de 1000 ppm. O etanol foi utilizado para solubilizar os OEs na água. As concentrações dos OEs foram definidas com base em estudos anteriores (Machado et al, 2013; 2014; Miranda et al, 2018). As folhas de couve foram cortadas, lavadas com água filtrada por 1 minuto e na sequência foram imersas nas soluções de tratamento, na proporção produto/solução de 1:15 (p/v), por 10 min com agitação manual. Após a aplicação dos tratamentos, as amostras foram centrifugadas (600 rpm/10 min), empacotadas em quantidade de aproximadamente 150 g em embalagens de tereftalato de polietileno, seladas e mantidas a 7 °C por 11 dias. Amostras lavadas apenas com água filtrada sem antimicrobiano por 1 min foram utilizadas como controle.

Análises microbiológicas

As análises microbiológicas foram realizadas nos dias 0, 2, 4, 7, 9 e 11 dias de armazenamento para determinar os níveis de contaminação após a lavagem em água e a redução na contagem microbiana após os tratamentos de sanitização. Foram realizadas contagem de bactérias aeróbias mesófilas (BAM), bactérias ácido lácticas (BAL) e de bolores e leveduras; foi determinado o número mais provável (NMP) de coliformes totais e coliformes termotolerantes e avaliada a presença de *Salmonella*. Todas as análises microbiológicas foram realizadas segundo recomendações da *Food and Drug Administration* – FDA (2018).

Após a sanitização, 25 g de couve foram imediatamente colocados em sacos para amostra de alimentos estéreis, e 225 mL de água peptonada 0,1% (pH 7,2) foram adicionadas para a homogeneização da amostra em *Stomacher* (Modelo 400 Circulator, Seward, Norfolk, England) por 1 min. Foram preparadas diluições em série com água peptonada 0,1% (pH 7,2).

As populações de BAM e BAL foram enumeradas por plaqueamento em profundidade em placas com ágar para contagem (Becton Dickinson, EUA) e ágar Man, Rogosa e Sharpe (Becton Dickinson, EUA), respectivamente. As colônias de BAM foram contadas após incubação a 37 °C por 48 h, e as de BAL após incubação em anaerobiose a 35 °C por 72 h. Bolores e leveduras foram enumerados pelo plaqueamento em superfície de placas contendo ágar dicloran rosa de bengala cloranfenicol (Becton Dickinson, EUA). As placas foram incubadas a 21 °C por 5 dias. Para a determinação de coliformes totais e coliformes termotolerantes, alíquotas das diluições seriadas foram inoculadas em caldo lauril sulfato triptose – LST (Becton Dickinson, EUA). Os tubos foram incubados a 35 °C/24 – 48 h e examinados quanto à produção de gás. Em seguida, as culturas positivas foram inoculadas em caldo verde brilhante bile 2% – BVB (Becton Dickinson, EUA) incubadas a 35 °C/24 – 48 h. As culturas positivas do caldo BVB foram inoculadas em caldo *Escherichia* EC (Becton Dickinson, EUA), incubadas a 44 ± 1 °C/24 h. Os resultados foram expressos em número mais provável por grama (NMP/g) da amostra analisada. A presença de *Salmonella* foi avaliada pelo pré-enriquecimento da amostra em caldo lactose a 35 °C/24 h; enriquecimento seletivo em caldo tetratoato de sódio e caldo Rappaport a 43 °C/24 h; plaqueamento seletivo diferencial em ágar xilose lisina desoxicolato e ágar entérico de Hectoen a 35 °C/24 h; identificação bioquímica em ágar tríplice açúcar e ferro (TSI) e ágar ferro lisina descarboxilase a 35 °C/24 h; e confirmação sorológica pela detecção de antígenos somáticos (poli O) e flagelares (poli H). Os resultados microbiológicos foram expressos como log UFC/g. As análises foram realizadas com 2 amostras em duplicatas.

Análise sensorial

Testes sensoriais afetivos (Meilgaard et al., 2006) foram realizados com 34 avaliadores, consumidores de couve, que foram solicitados a avaliar a aparência, a cor e o sabor das amostras utilizando uma escala hedônica de nove pontos, variando de 1 (desgostei muitíssimo) a 9 (gostei muitíssimo). Os avaliadores também foram questionados sobre sua intenção de compra se encontrassem o produto à venda, usando uma escala estruturada de 5 pontos, variando de 1 (eu certamente não compraria) a 5 (eu certamente compraria). Foi ainda realizado um teste para medir a intensidade de sabor

estranho (qualquer sabor não característico de couve) com a utilização de uma escala linear de 9 pontos, variando de 0 = nenhum a 9 = forte. Todos os protocolos foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Parecer CONEP 3.117.036).

Para o teste de aparência, as amostras foram acondicionadas em embalagens plásticas transparentes com tampa, de capacidade 1,8 L, cortadas em tiras e dispostas em uma bandeja codificada com números aleatórios de 3 dígitos sobre uma bancada em área comum a todos os julgadores. Para fazer sua avaliação, cada julgador abria a tampa e depois fechava. Após o teste de aparência, o avaliador se dirigia às cabines individuais para realizar o teste de sabor, onde recebia 6 g de couve cortada, acondicionadas em embalagens plásticas individuais com tampa, de capacidade 100 mL, servidos com garfo descartável e um copo com água. As amostras foram servidas simultaneamente, codificadas com números aleatórios de três dígitos e apresentadas de forma monádica e balanceada para minimizar o efeito do posicionamento da amostra. Os parâmetros sensoriais foram avaliados no tempo zero (T = 0 dia).

Análise estatística

Para se ter uma visão geral do efeito dos óleos essenciais nas amostras de couve, tanto nos atributos microbianos quanto nos sensoriais das amostras, foi realizada a análise de variância (ANOVA) em ambos os conjuntos de dados, e as médias foram comparadas pela diferença mínima significativa (DMS) utilizando-se o teste Tukey ao nível de 5%. Todas as análises foram realizadas com a utilização do programa XLSTAT v. 18.01 (Addinsoft).

Resultados e Discussão

Contagem microbiana inicial e após a desinfecção das amostras de couve minimamente processadas

A contagem microbiana inicial e após a desinfecção de cada tratamento pode ser visualizada na Tabela 1.

Tabela 1. Efeito de tratamentos de desinfecção nas populações de bactérias aeróbias mesófilas (BAM), bolores e levedura, bactérias ácido lácticas (BAL) e coliformes termotolerantes em couve¹.

Tratamento	BAM (log UFC/g)	Bolores e leveduras (log UFC/g)	BAL (log UFC/g)	Coliformes a 45 °C (NMP/g) ²
Água ³	4,4 ± 0,5 a	4,5 ± 0,2 a	5,2 ± 0,0 a	3,6 ± 0,0 a
Cloro (200 ppm)	3,2 ± 0,1 b	3,4 ± 0,1 b	1,8 ± 0,1 c	< 3,0 ± 0,0 b
OECL ⁴ (750 ppm)	4,2 ± 0,2 a	2,5 ± 0,0 c	2,9 ± 0,0 b	< 3,0 ± 0,0 b
OEAP ⁵ (1000 ppm)	4,3 ± 0,0 a	3,1 ± 0,2 b	2,5 ± 0,8 bc	< 3,0 ± 0,0 b

¹ Os valores mostrados são médias de replicatas. ² O valor de < 3,0 indica que o NMP (número mais provável) de coliformes a 45 °C por amostra foi abaixo do nível de detecção para o método de enumeração. ³ Controle. ⁴ Óleo essencial de capim-limão. ⁵ Óleo essencial de alecrim-pimenta.

Após a lavagem com água, as amostras apresentaram contagens iniciais de 5,2 log ufc/g para BAL, 4,5 log UFC/g para bolores e leveduras, 4,4 log UFC/g de BAM e 3,6 de NMP/g de coliformes termotolerantes (45 °C). Não foi detectada a presença de *Salmonella*.

A Tabela 1 mostra a sobrevivência dos grupos microbianos nas amostras de couve após os tratamentos com hipoclorito de sódio, OE de capim-limão e OE de alecrim-pimenta. O efeito inicial dos três tratamentos (cloro, OE de capim-limão e OE de alecrim-pimenta) sobre BAL foi significativamente diferente ($p < 0,05$) do obtido com a lavagem com água. A maior redução sobre esse grupo bacteriano foi obtida com o cloro, seguido pelo OE de alecrim-pimenta e OE de capim-limão, que reduziram 3,4; 2,7 e 2,5 log UFC/g, respectivamente. Em relação à contagem de bolores e leveduras, o tratamento com o OE de capim-limão foi o mais efetivo, reduzindo a contagem inicial em 2,0 log UFC/g, enquanto que os tratamentos com o OE de alecrim-pimenta e cloro reduziram essa contagem em 1,4 e 1,1 log UFC/g, respectivamente. Somente o tratamento com cloro reduziu a contagem de BAM nas amostras (1,2 log UFC/g), enquanto que o NMP de coliformes termotolerantes (45 °C) foram completamente reduzidos nos tratamentos com os três tratamentos. Não foi detectada a presença de *Salmonella* em nenhuma das amostras analisadas. Considerando-se as diferenças maiores do que 1,0 log UFC/g na redução das contagens microbianas obtidas nas amostras tratadas com ambos os OEs, de acordo com a *Food and Drug Administration* (2001), o efeito sanitizante dos OEs de capim-limão e alecrim-pimenta sobre a microbiota

nativa da couve é considerável. Ademais, a redução ao nível não detectável do NMP de coliformes termotolerantes e a ausência de *Salmonella* classificam as amostras analisadas em condições higiênicas satisfatórias (Brasil, 2001).

Efeito dos tratamentos de desinfecção na evolução da população microbiana

A Tabela 2 mostra o efeito dos tratamentos com hipoclorito de sódio e dos OEs do capim-limão e alecrim-pimenta sobre as diferentes populações microbianas nas amostras de couve armazenadas a 7 °C por 11 dias.

Tabela 2. Sobrevivência de bactérias aeróbias mesófilas (BAM), bactérias ácido lácticas (BAL), bolores e leveduras (B e L) em couve sanitizada com óleos essenciais e Cloro¹.

População bacteriana	Dia 0	Dia 2	Dia 4	Dia 7	Dia 9	Dia 11
BAM (log UFC/g)						
Cloro (200 ppm)	3,2 ± 0,1a	5,5 ± 0,0b	5,6 ± 0,1a	6,2 ± 0,0b	6,7 ± 0,0b	6,4 ± 0,3c
OECL ³ (750 ppm)	4,2 ± 0,2b	5,2 ± 0,2 ^a	5,5 ± 0,0a	5,1 ± 0,0a	5,4 ± 0,4a	3,9 ± 0,0a
OEAP ⁴ (1000 ppm)	4,3 ± 0,0b	5,7 ± 0,1c	5,4 ± 0,1a	6,4 ± 0,0c	7,7 ± 0,1c	5,9 ± 0,1b
BAL (log UFC/g)						
Cloro (200 ppm)	1,8 ± 0,1a	2,5 ± 0,1 ^a	2,5 ± 0,0a	2,9 ± 0,0b	2,9 ± 0,1b	2,9 ± 0,0b
OECL ³ (750 ppm)	2,9 ± 0,0b	2,8 ± 0,1b	2,7 ± 0,1b	2,4 ± 0,2a	1,2 ± 0,2a	1,5 ± 0,2 ^a
OEAP ⁴ (1000 ppm)	2,6 ± 0,3b	2,8 ± 0,0b	3,3 ± 0,1c	4,2 ± 0,0c	4,6 ± 0,1c	4,4 ± 0,0c
B e L (log UFC/g)						
Cloro (200 ppm)	3,4 ± 0,1b	2,9 ± 0,1b	2,9 ± 0,2b	< 1,0 ² a	3,8 ± 0,1c	4,2 ± 0,0b
OECL ³ (750 ppm)	2,5 ± 0,0a	< 1,0a	< 1,0a	< 1,0a	< 1,0a	< 1,0a
OEAP ⁴ (1000 ppm)	3,1 ± 0,2b	3,6 ± 0,2c	2,9 ± 0,1b	2,9 ± 0,2b	2,7 ± 0,3b	4,2 ± 0,2b

¹ Os valores mostrados são médias de replicatas. ² O valor de < 1,0 indica que a contagem de bolores e leveduras por amostra foi abaixo do nível de detecção para o método de enumeração. ³ Óleo essencial de capim-limão. ⁴ Óleo essencial de alecrim-pimenta.

As contagens iniciais de BAM, BAL, bolores e leveduras variaram entre 3,2 a 4,3 log UFC/g, 1,8 a 2,9 log UFC/g e 2,5 a 3,4 log UFC/g, respectivamente. As populações microbianas nas amostras de couve mostraram evoluções diferentes frente aos tratamentos. As contagens finais de BAM, BAL e bolores e leveduras para as amostras tratadas com cloro foram 6,4; 2,9 e 3,8 log UFC/g, respectivamente. Nas amostras tratadas com o OE capim-limão, as contagens finais de BAM, BAL e bolores e leveduras foram 5,4; 1,5 e < 10 log UFC/g, respectivamente, e nas amostras tratadas com o OE de alecrim-pimenta o incremento foi 7,7; 4,6 e 2,7 log UFC/g para BAM, BAL e bolores e leveduras, respectivamente. Hortaliças que contêm naturalmente baixas concentrações de açúcares, como alface ou endívias, mostraram uma deterioração dominada por microrganismos Gram-negativos, enquanto outras hortaliças com maior teor de carboidratos, como couve ou aipo, sofrem crescimento rápido e intenso de BAL e leveduras (Bourke et al., 2009). Assim, de acordo com os resultados mostrados na Tabela 2, a solução do OE de capim-limão apresenta maior eficácia frente aos microrganismos deterioradores nas amostras de couve. A contagem de bactérias grupo coliformes foi abaixo dos níveis de detecção para o método de enumeração utilizado, e não foi detectada a presença de *Salmonella* nas amostras avaliadas em todos os tratamentos. Portanto, do ponto de vista de alimento seguro, os OEs utilizados neste estudo podem ser alternativas adequadas ao cloro na descontaminação de couve minimamente processada. Vários trabalhos relatam atividade antimicrobiana dos OEs de orégano (*Origanum vulgare*), tomilho (*Thymus vulgaris*), sávia (*Salvia officinalis*), alecrim (*Rosmarinum officinalis*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*) erva-cidreira (*Lippia alba*) e alecrim-pimenta (*Rosemary pepper*) contra bactéria, bolores e leveduras (Busatta et al., 2008; Gunduz et al., 2010; Gutierrez et al., 2009; Ma et al., 2017; Ponce et al., 2011; Machado et al., 2012; Machado et al., 2014; Miranda et al., 2018). Os Componentes fenólicos presentes nesses OEs possuem atividade antimicrobiana e podem ser usados para prevenir o crescimento de bactérias nativas e contaminantes em vegetais (Prakasha et al., 2018; Viacava et al., 2018). Não há relatos na literatura do uso de OEs na desinfecção de couve minimamente processada. Entretanto, na alface minimamente processada, são vários os relatos da eficácia de diferentes OEs no controle de bactérias patogênicas e deterioradoras. Wan et al. (1998) relataram que o óleo de manjeriço mostrou efeito contra bactérias deterioradoras comparável à

lavagem com 125 ppm de cloro, enquanto Singh et al. (2002) mostraram o efeito do óleo de tomilho (*Thymus vulgaris*) na redução de *Salmonella* nessa hortaliça. Gunduz et al. (2010, 2012) mostraram que as lavagens de alface com 75 ppm de óleo de folhas de orégano (*Origanum vulgare*) e 1000 ppm de óleo de folhas de murta (*Myrtus communis*) foram comparáveis à lavagem com 50 ppm de cloro na redução de *Salmonella* Typhimurium. O óleo de capim-limão (0,5%) reduziu *Salmonella* Newport em 1,5 log ufc/g em alface orgânica (Moore-Neibel et al., 2012). Siroli et al. (2015) relataram que os OEs de tomilho e orégano controlaram a microbiota contaminante sem comprometer a qualidade sensorial da alface minimamente processada. Neste estudo, o OE de capim-limão mostrou efeito antimicrobiano melhor do que o cloro no controle da microbiota nativa de couve. Além disso, ambos os OEs mostram efeito contra patógenos ocorrentes em vegetais como *Salmonella* e coliformes termotolerantes.

Efeito dos tratamentos de desinfecção nos atributos sensoriais

Os resultados do efeito dos tratamentos de desinfecção nos atributos sensoriais são mostrados na Tabela 3.

Tabela 3. Avaliação sensorial da couve tratada com diferentes sanitizantes.

Tratamento	Aceitação da aparência	Aceitação da cor	Aceitação do sabor	Intensidade de aroma estranho
Cloro (200 ppm)	7,62a	7,68a	6,85a	1,42b
OECL ¹ (750 ppm)	6,73b	6,62b	5,00b	6,47a
OEAP ² (1000 ppm)	5,79c	5,94b	3,65c	6,47a

Médias com mesma letra minúscula na mesma coluna não diferem entre si ($p \geq 0,05$). ¹ Óleo essencial de capim-limão. ² Óleo essencial de alecrim-pimenta.

Todas as amostras de couve minimamente processadas apresentaram médias na região de aceitação da escala hedônica (acima de 5) para aparência global e cor. No entanto, as amostras tratadas com os OEs apresentaram aceitação inferior à amostra controle (tratada com cloro), sendo que a amostra tratada com o OE de alecrim-pimenta apresentou menor aceitação

do que a amostra tratada com OE capim-limão nesse requisito. Em relação ao sabor, as amostras tratadas com os OEs apresentaram aceitação menor do que a amostra tratada com hipoclorito de sódio. O sabor da couve tratada com o OE de alecrim-pimenta foi rejeitado (média abaixo de 5), enquanto a aceitação do sabor da couve tratada com capim-limão ficou no meio da escala hedônica (5,0), que é a região de indiferença (não gostei, nem desgostei). A baixa aceitabilidade do sabor das amostras tratadas com os OEs pode ser explicada pela elevada intensidade de aroma estranho percebido nessas amostras.

Em relação à intenção de compra, as amostras tratadas com hipoclorito de sódio obtiveram maior aceitação, com 76% dos consumidores mostrando uma atitude positiva de compra (possivelmente compraria + certamente compraria). Para as amostras tratadas com óleos essenciais, a maioria dos consumidores apresentou atitude negativa de compra (possivelmente não compraria + certamente não compraria). Entretanto, deve-se ressaltar que a couve tratada com OE capim-limão apresentou frequência de 24% na categoria talvez comprasse, talvez não comprasse e 18% em possivelmente compraria, confirmando sua superioridade em relação à amostra tratada com alecrim-pimenta.

O uso de OE como conservante natural tem sido limitado em hortaliças minimamente processadas. Suas características de baixa solubilidade, alta volatilidade e fortes propriedades organolépticas limitam seu amplo uso, porque doses antimicrobianas eficazes excedem níveis aceitáveis do ponto de vista organoléptico. Prakasha et al. (2018) relataram que uma alternativa viável para essas limitações é a encapsulação dos OEs para uso em nanoemulsões. Nesse sentido, Viacava et al. (2018) compararam o uso do óleo essencial de tomilho (OET) na forma livre e microencapsulado em β -ciclodextrina sobre aspectos de qualidade de alface minimamente processada durante 12 dias de armazenamento sob refrigeração. Relataram que as amostras tratadas com o OET encapsulado apresentaram melhores características microbiológicas e organolépticas do que as amostras tratadas com o OET livre.

Do ponto de vista de alimento seguro, e de acordo com o padrão microbiológico estabelecido pela RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), que determina o máximo de 2 log UFC/g coliformes termotolerantes

e ausência de *Salmonella* em 25 g de amostra de hortaliça minimamente processada, as amostras de couve tratadas com os OEs de capim-limão e alecrim-pimenta apresentaram condições higiênicas satisfatórias. Contudo, a aplicação dos referidos OEs em hortaliças minimamente processadas requer mais estudos por meio da incorporação de obstáculos adicionais, como uso de embalagem com atmosfera modificada ou outros conservantes naturais em diferentes concentrações (estudos de sinergismo), bem como uma extensa triagem sensorial, a fim de garantir a qualidade geral do produto, mantendo a segurança alimentar.

Conclusões

1. As folhas de couve tratadas com as soluções de cloro (200 ppm), OE de capim-limão (750 ppm) e OE de alecrim-pimenta (1000 ppm) apresentam condições higiênicas satisfatórias.

2. Embora tenha-se observado que, no controle da microbiota nativa da couve sob refrigeração, a eficácia da solução do OE de capim-limão é superior às soluções de cloro e do OE de alecrim-pimenta, as couves tratadas com OE de capim-limão ou alecrim-pimenta tiveram baixa aceitabilidade, não sendo um tratamento recomendado nas concentrações testadas.

Referências

- ALLENDE, A.; TOMÁS-BARBERÁN, A.; GIL, M. I. Minimal processing for healthy traditional foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 513-519, 2006.
- AZEREDO, G. A.; STAMFORD, T. L. M.; NUNES, P. C.; NETO, N. J. G.; OLIVEIRA, M. E. C.; SOUZA, E. L. Combined application of essential oils from *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. to inhibit bacteria and autochthonous microflora associated with minimally processed vegetables. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1541-1548, 2011.
- BANSAL, S.; CHOUDHARY, S.; SHARMA, M.; KUMAR, S. S.; LOHAN, S.; BHARDWAJ, V.; SYAN, N.; JYOTI, S. Tea: A native source of antimicrobial agents. **Food Research International**, v. 53, p. 568-584, 2013.
- BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. Essential oils for the treatment of fruit and vegetable. In: GÓMES-LÓPEZ, V. M. (Ed.). **Decontamination of fresh and minimally processed produce**. Toronto: John Wiley & Sons, 2012. p. 225-246.

BHARGAVA, K.; DENISE S. C.; ROCHA, S. R. P.; ZHANG, Y. Application of an oregano oil nano emulsion to the control of food borne bacteria on fresh lettuce. **Food Microbiology**, v. 47, p. 69-73, 2015.

BOURKE, P.; GUTIERREZ, J.; LONCHAMP, J.; BARRY-RYAN, C. Impact of Plant Essential oils on microbiological, organoleptic and quality markers of minimally processed vegetables. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 10, n. 2, p. 135-296, 2009.

BRASIL. Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre o Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 de jan. 2001.

BUSATTA, C.; POPIOLSKI, A.; MOSSI, A.; DARIVA, C.; RODRIGUES, M.; CORAZZA, F.; CORAZZA, J.; CANSIAN, R. Application of *Oreganum majorana* L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage. **Food Microbiology**, v. 25, p. 207-211, 2008.

CALLEJÓN, R. M.; RODRÍGUEZ-NARANJO, M. I.; UBEDA, C.; HORNEDO-ORTEGA, R.; GARCIA-PARRILLA, M. C.; TRONCOSO, A. M. Reported foodborne outbreaks due to fresh produce in the United States and European union: Trends and causes. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 12, p. 32-38, 2015.

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

CUNHA, L. M.; CABRAL, D.; MOURA, A. P.; ALMEIDA, M. D. V. Application of the Food Choice Questionnaire across cultures: Systematic review of cross-cultural and single country studies. **Food Quality and Preference**, v. 64, p. 21-36, 2018.

FERNÁNDEZ, M. V.; AGÜERO, M. V.; JAGUS, R. J. Green tea extract: a natural antimicrobial with great potential for controlling native microbiota, *Listeria innocua* and *Escherichia coli* in fresh-cut beet leaves. **Journal of Food Safety**, v. 38, p. 1-9, 2018.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical: Manual Online (BAM)**. Disponível em: <www.fda.gov>. Acesso: 18 jun. 2018.

GIL, M. I.; SELMA, M. V.; LÓPEZ-GALVEZ, F.; ALLENDE, A. Fresh-cut product sanitation and wash water disinfection: problems and solutions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 134, p. 37-45, 2009.

GÜNDÜZ, G. T.; GÖNÜL, Ş. A.; KARAPINAR, M. Efficacy of oregano oil in the inactivation of *Salmonella* Typhimurium on lettuce. **Food Control**, v. 21, p. 513-517, 2010.

GÜNDÜZ, G. T.; NIEMIRA, B. A.; GÖNÜL, Ş. A.; KARAPINAR, M. Antimicrobial activity of oregano oil on iceberg lettuce with different attachment conditions. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 7, M412-M415, 2012.

GUTIERREZ, J.; BOURKE, P.; LONCHAMP, J.; BARRY-RYAN, C. Impact of plant essential oils on microbiological, organoleptic and quality markers of minimally processed vegetables. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 10, p. 195-202, 2009.

LÓPEZ-GÁLVEZ, F.; ALLENDE, A.; SELMA, M. V.; GIL, M. I. Prevention of *Escherichia coli* cross-contamination by different commercial sanitizers during washing of fresh-cut lettuce. **International Journal of Food Microbiology**, v. 133, p. 167-171, 2009.

MA, L.; ZHANGA, M.; BHANDARI, B.; GAO, Z. Recent developments in novel shelf life extension technologies of fresh-cut fruits and vegetables. **Trends in Food Science & Technology**, v. 64, p. 23-38, 2017.

MACHADO, T. F.; PEREIRA, R. C. A.; SOUSA, C. T.; BATISTA, V. C.; PEREIRA, M. C. **Atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim-limão**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2012. 15 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 62). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/79658/1/ESSENCIAL-DE-CAPIM-LIMAO.pdf>>. Acesso em: 08 maio 2020.

MACHADO, T. F.; PEREIRA, R. C. A.; REBOUÇAS, J. O.; PONTES, C. M.; XAVIER, T. F. **Atividade antimicrobiana do óleo essencial de capim-limão contra *Salmonella Typhimurium* em repolho**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. 15 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 77). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/98573/1/BPD13006.pdf>>. Acesso em: 08 jul. 2020.

MACHADO, T. F.; PEREIRA, R. C. A.; REBOUÇAS, J. O.; PONTES, C. M.; XAVIER, T. F. **Controle de *Listeria Monocytogenes* em repolho com óleo essencial de capim-limão**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2014. 13 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 89). Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/107280/1/BPD14001.pdf>>. Acesso em: 08 jul. 2020.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2006. 464 p.

MIRANDA, K. W. E.; SILVA, E. M. C.; MACHADO, T. F. Antibacterial activity of the essential oil of Rosemary pepper. **Biomedical Journal of Scientific & Technical Research**, v. 8, p. 1-2, 2018.

MOORE-NEIBEL, K.; GERBER, C.; PATEL, J.; FRIEDMAN, M.; RAVISHANKAR, S. Antimicrobial activity of lemongrass oil against *Salmonella* enterica on organic leafy greens. **Journal of Applied Microbiology**, v. 112, p. 485-492, 2012.

OLIVEIRA, D. C. R.; LEAL, P. A. M.; HONÓRIO, S. L.; SOARES, E. K. B. Sensory quality attributes of lettuce obtained using different harvesting performance systems. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 2, p. 239-244, 2013.

PATRIGNANI, F.; SIROLI, L.; SERRAZANETTI, D. I.; GARDINI, F.; LANCIOTTI, R. Innovative strategies based on the use of essential oils and their components to improve safety, shelf-life and quality of minimally processed fruits and vegetables. **Trends in Food Science & Technology**, v. 46, p. 311-319, 2015.

PONCE, A.; ROURA, S. I.; MOREIRA, M. R. Essential Oils as Biopreservatives: different methods for the technological application in lettuce leaves. **Journal of Food Science**, v. 76, n. 1, M34-M40, 2011.

PRAKASH, A.; BASKARAN, R.; PARAMASIVAM, N.; VADIVEL, V. Essential oil based nanoemulsions to improve the microbial quality of minimally processed fruits and vegetables: a review. **Food Research International**, v. 111, p. 509-523, 2018. doi:10.1016/j.foodres.2018.05.066

RICO, D.; MARTIN-DIANA, A. B.; BARAT, J. M.; BARRY-RYAN, C. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 18, p. 373-386, 2007.

SANT'ANA, A. S.; FRANCO, B. D. G. M.; SCHAFFNER, D. W. Risk of infection with *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* due to consumption of ready-to-eat leafy vegetables in Brazil. **Food Control**, v. 42, p. 1-8, 2014.

SÃO JOSÉ, J. F. B.; VANETTI, M. C. D. Effect of ultrasound and commercial sanitizers in removing natural contaminants and *S. enteritidis* on cherry tomatoes. **Food Control**, v. 24, p. 95-99, 2012.

SINGH, N.; SINGH, R. K.; BHUNIA, A. K.; STROSHINE, R. L. Effect of inoculation and washing methods on the efficacy of different sanitizers against *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce. **Food Microbiology**, v. 19, p. 183-193, 2002.

SIROLI, L.; PATRIGNANI, F.; SERRAZANETTI, D. I.; TABANELLI, G.; MONTANARI, C.; TAPPIA, S.; ROCCULIA, P.; GARDINI, F.; LANCIOTTI, R. Efficacy of natural antimicrobials to prolong the shelf-life of minimally processed apples packaged in modified atmosphere. **Food Control**, v. 46, p. 403-411, 2014.

SIROLI, L.; PATRIGNANI, F.; SERRAZANETTI, D. I.; TAPPI, S.; ROCCULI, P.; GARDINI, F.; LANCIOTTI, R. Natural antimicrobials to prolong the shelf-life of minimally processed lamb's lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 103, p. 35-44, 2015.

SIROLI, L.; PATRIGNANI, F.; SERRAZANETTI, D. I.; VERNOCCHI, P.; CHIERICO, F. D.; RUSSO, A.; TORRIANI, S.; PUTIGNANI, L.; GARDINI, F.; LANCIOTTI, R. Effect of thyme

essential oil and *Lactococcus lactis* CBM21 on the microbiota composition and quality of minimally processed lamb's lettuce. **Food Microbiology**, v. 68, p. 61-70, 2017.

STEPHAN, R.; ALTHAUS, D.; KIEFER, S.; LEHNER, A.; HATZ, C.; SCHMUTZ, C. Foodborne transmission of *Listeria monocytogenes* via ready-to-eat salad: A nationwide outbreak in Switzerland, 2013 - 2014. **Food Control**, v. 57, p. 14-17, 2015.

TABAN, B. M.; HALKMAN, A. K. Do leafy green vegetables and their ready-to-eat [RTE] salads carry a risk of foodborne pathogens? **Anaerobe**, v. 17, p. 286-287, 2011.

VIACAVA, G. E.; AYALA-ZAVALAB, J. F.; GONZÁLEZ-AGUILARB, G. A.; ANSORENA, M. R. Effect of free and microencapsulated thyme essential oil on quality attributes of minimally processed lettuce. **Postharvest Biology and Technology**, v. 145, p. 125-133, 2018.

WAN, J.; WILCOCK, A.; COVENTRY, M. J. The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 84, p. 152-158, 1998.

WULFKUEHLER, S.; KURFISS, L.; KAMMERER, D. R.; WEISS, A.; SCHMIDT, H.; CARLE, R. Impact of different washing procedures on quality of fresh-cut iceberg lettuce (*Lactuca sativa* var. capitata L.) and endive (*Cichorium endivia* L.). **European Food Research and Technology**, v. 236, p. 229-241, 2013.

Embrapa

Agroindústria Tropical



MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO

