

URI - CAMPUS ERECHIM
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE MESTRADO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE *IN VITRO* E EM
SALAME TIPO ITALIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.)**

ILOIR GAIO

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos da URI-Campus de Erechim, como requisito parcial à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos, da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Campus de Erechim.

ERECHIM, RS - BRASIL

MAIO DE 2008

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE *IN VITRO* E EM
SALAME TIPO ITALIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.)**

ILOIR GAIO

Dissertação de Mestrado submetida à Comissão Julgadora do Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos, Área de Concentração: Engenharia de Alimentos.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Alexandre José Cichoski
Orientador

Prof. Dr. Rogério Luis Cansian
Orientador

Prof. Dr. Nelcindo Nascimento Terra

Prof^a. Dr^a. Geciane Toniazzo

Erechim, 09 de Maio de 2008

NESTA PÁGINA DEVERÁ SER INCLUÍDA A FICHA CATALOGRÁFICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO. ESTA FICHA SERÁ ELABORADA DE ACORDO COM OS PADRÕES DEFINIDOS PELO SETOR DE PROCESSOS TÉCNICOS DA BIBLIOTECA DA URI – CAMPUS DE ERECHIM.

Dedico este trabalho:

À minha amada esposa Elisandra (Ise) que sempre esteve presente nesta jornada com muito amor, carinho e paciência, dando-me muito incentivo e apoio necessários para a realização deste trabalho.

Aos meus pais Júlio (*in memoriam*) e Maria por todo amor, carinho e dedicação e por vocês terem sido pessoas exemplares para mim.

A todos aqueles que contribuíram para a que esta etapa fosse cumprida.

AGRADECIMENTOS

Aos professores Alexandre José Cichoski e Rogério Luis Cansian pelo estímulo e orientação;

Aos professores do programa de mestrado José Vladimir de Oliveira, Marco Di Luccio, Débora de Oliveira, Helen Treichel, Marcos e Fernanda Corazza, Cláudio Dariva, Francine Padilha, pelos bons momentos compartilhados e pelos ensinamentos;

Aos professores Altemir Mossi, Eunice Valduga, Geciane Toniazzi, Rogério Dallago, Cláudio Augusto Zakrzewski, pelo auxílio, sugestões e colaborações durante o desenvolvimento deste trabalho;

À Minha amada esposa Elisandra, pelo amor, incentivo e apoio;

Aos colegas de mestrado Gabriela, Jarbas, Renata, Joncimar, Luis Franken, Bernardo, Nara, Adriana Sagioratto, Adriana Biasi, Marilucia, Cilda e Marcelo, pela amizade, colaboração e principalmente pelos bons momentos vividos;

Aos colegas Lindomar Lerin, Viviane Astolfi, Jarbas Ferrari, Roberta Kruger, Clarissa Dalla Rosa, Morgana Maloz, Gabriele Gaiki, Leandro Borges, André Colla e Marcieli Peruzzolo, pelo auxílio e colaboração;

Ao pessoal de Central de Materiais Rositânia Frozza, Juliane Bernardi, Leonardo Galião, Vera Lúcia Berto, Rogério Dellanora, Fernanda Morgan e Madalena Bandiera, pelo apoio técnico para realização dos experimentos;

À Aline Petkowicz em agradecimento ao profissionalismo e atenção;

Aos bolsistas Annelise Candeia, Renata Ril, Mariane Zanella, Franciele de Oliveira, Naira Carniel, pelo auxílio na realização da etapa experimental;

À Sacco Com. Imp. E Exp. De Alimentos Ltda. Campinas SP. - pelo fornecimento das Culturas microbianas (*starters*);

À Kraki - Kienast & Kratschmer Ltda. São Paulo SP. – Pelo fornecimento dos ingredientes e envoltórios;

À URI – Campus de Erechim pelo apoio na realização deste projeto.

À medida que nos aproximamos da verdade,
vamos encontrar muitas coisas que antes nos
iludiam e agora são simples ninharias,
obrigando-nos a modificar nossa escala
de valores.

Alberto A. Lohmann

Resumo da Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Engenharia de Alimentos como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE *IN VITRO* E EM
SALAME TIPO ITALIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE
MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.)**

ILOIR GAIO

Maio/2008

Orientadores: Alexandre José Cichoski
Rogério Luis Cansian

Este trabalho teve como objetivo a avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante *in vitro* e em Salame Tipo Italiano do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). A extração por hidrodestilação foi realizada através de um extrator tipo Clevenger. A identificação dos compostos do óleo essencial foi feita por CG/EM e os picos obtidos foram integrados de modo manual comparando-os com os espectros existentes no banco de dados da biblioteca Willey do equipamento. A atividade antimicrobiana *in vitro* foi avaliada preliminarmente através do método de difusão em placas, posteriormente determinaram-se as concentrações inibitórias mínimas (CIM) fundamentadas na densidade ótica. A atividade antioxidante *in vitro* foi realizada através da captura de radicais livres com o teste de DPPH. Realizou-se previamente uma análise sensorial empregando diferentes concentrações de óleo essencial de manjeriço em salame tipo italiano, com a finalidade de avaliar sua

aceitação. Com as concentrações de óleo essencial de manjeriço aceites sensorialmente (0,75, 0,38 e 0,19 mg g⁻¹), elaborou-se o Salame Tipo Italiano empregando-as, juntamente com outros dois tipos de salame onde um foi adicionado de antioxidante comercial (Padrão) e o outro sem nenhum tipo de antioxidante adicionado (Branco). Nestes cinco tipos de salames elaborados durante a etapa de processamento (0, 2°, 7°, 14°, 21° e 28° dias) e após armazenamento de 30 dias a 22°C, realizou-se as análises de pH, atividade de água, umidade, acidez, TBARS, bactérias lácticas e mesófilas, Micrococcaceae, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Pelo método de extração utilizado obteve-se um rendimento de 1,2% (v/m) de óleo essencial de manjeriço. Foram identificados como compostos majoritários o linalol (71,01%), 1,8 cineol (8,27%), aromadendreno (6,73%) e trans cariofileno (4,84%). Das 18 bactérias avaliadas preliminarmente em relação a atividade antimicrobiana, o óleo essencial de manjeriço não apresentou atividade somente em relação a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*. Para todas as bactérias avaliadas a CIM variou entre 0,25 e 1,00 mg g⁻¹, sendo que nas Gram positivas a média foi de 0,75 mg g⁻¹ e nas Gram negativas de 0,73 mg g⁻¹. Na atividade antioxidante *in vitro* encontrou-se um valor de IC₅₀ de 12.003,93 µg mL⁻¹, valor esse semelhante ao encontrado em óleos essenciais de outras espécies, porém baixa em relação a extratos vegetais. Concentrações acima de 0,75 mg g⁻¹ de óleo essencial de manjeriço foram classificadas como muito e extremamente diferentes do padrão em relação ao aroma e sabor. As concentrações de 0,75, 0,38 e 0,19 mg g⁻¹ do óleo testadas na formulação de Salame Tipo Italiano não tiveram influência significativa sobre os valores de pH, a_w, umidade e acidez, assim como para as bactérias da família Micrococcaceae, bactérias lácticas e aeróbicas heterotróficas. O óleo essencial de manjeriço mostrou influência significativa na redução da população de *Staphylococcus aureus* na concentração de 0,75 mg g⁻¹, até o 14º dia de processamento, enquanto que para à *Escherichia coli* houve diminuição no número de células inoculadas após o sétimo dia em todos os tratamentos não sendo possível avaliar a influência do óleo essencial.

Abstract of Dissertation presented to Food Engineering Program as a partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master in Food Engineering

**ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES *IN VITRO* AND
DRY SAUSAGE OF *Ocimum basilicum* L. ESSENTIAL OIL**

ILOIR GAIO

May/2008

Advisors: Alexandre José Cichoski

Rogério Luis Cansian

This work evaluates antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil of basil (*Ocimum basilicum* L.) *in vitro* and in Italian type sausage. The hydrodistillation was carried out in a Clevenger apparatus. The volatile compounds were analyzed by GC/MS, comparing the mass spectra with those from the database of Wiley library. The *in vitro* antimicrobial activity was preliminarily evaluated by the method of diffusion in plates, and were later determined by the minimum inhibitory concentrations (MIC) based on the optical density. The *in vitro* antioxidant activity was carried out by the capture of free radicals with the DPPH test. A sensorial analysis was previously carried out using different basil essential oil concentrations in Italian sausage formulation, with the purpose to evaluate its acceptance. The concentrations of basil essential oil that passed the acceptance test in the sensorial evaluation (0.75, 0.38 and 0.19 mg g⁻¹) were used for assessment of antioxidant activity in the Italian type sausage. Standard and control (blank) formulations were also tested. In the standard product a commercial antioxidant was added, while in the control no antioxidant was used in the formulation. The five types of sausages

elaborated were analyzed during the stage of processing or maturation (0, 2°, 7°, 14°, 21° and 28° day), and after 30 days of storage at 22°C. The samples were analyzed for pH, water activity, humidity, acidity, TBARS, lactic and heterotrophic bacteria, Micrococcaceae, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. An yield of 1.2% (v/w) of basil essential oil was obtained using the hydrodistillation. The major compounds identified were linalool (71.01%), 1,8 cineole (8.27%), aromadendrene (6.73%) and trans-caryophyllene (4.84%). Only *Pseudomonas aeruginosa* was not influenced by the essential oil of basil from the 18 bacteria tested for antimicrobial activity. The MIC varied between 0.25 and 1.00 mg g⁻¹, for all the evaluated bacteria. The Gram positive presented an average MIC of 0.75 mg.g⁻¹, while for the Gram negative the average MIC was 0.73 mg.g⁻¹. In the *in vitro* antioxidant activity experiments an IC₅₀ of 12,003.93 µg.mL⁻¹ was obtained. This result is similar to those found for other essential oils. Concentrations of essential oil above 0.75 mg.g⁻¹ were classified as very and extremely different from the standard in relation to aroma and flavor. The concentrations of 0.75, 0.38 and 0.19 mg.g⁻¹ did not significantly (p<0.05) influence the final values of pH, a_w, humidity and acidity, as well as for the Micrococaceae, lactic and heterotrophic bacteria. The essential oil of basil could significantly reduce the population of *Staphylococcus aureus* until the 14th day of processing, when the concentration of 0.75 mg g⁻¹ was used in the formulation. For *Escherichia coli* a reduction in the viable cell counting was detected in all formulations, and therefore it was not possible to evaluate the influence of the essential oil.