CASSIA DUARTE OLIVEIRA

BIOLOGICAL EVALUATION AND APPLICATION OF ESSENTIAL OILS IN ACTIVE PACKAGING AS ANTIOXIDANTS IN SALAMI

LAVRAS - MG
2024

CASSIA DUARTE OLIVEIRA

BIOLOGICAL EVALUATION AND APPLICATION OF ESSENTIAL OILS IN ACTIVE PACKAGING AS ANTIOXIDANTS IN SALAMI

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

Profª. Drª. Maria das Graças Cardoso
Orientadora

Prof. Dr. Eduardo Mendes Ramos
Coorientador

LAVRAS - MG
2024

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Oliveira, Cassia Duarte.
Biologicalevaluation and application of essentialoils in active packaging as antioxidantsin salami / Cassia Duarte Oliveira. - 2024.
138 p. : il.

Orientador(a): Maria das Graças Cardoso.
Coorientador(a): Eduardo Mendes Ramos.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2024.
Bibliografia.

1. Produtos naturais. 2. Oxidação. 3. Tomilho. I. Cardoso, Maria das Graças. II. Ramos, Eduardo Mendes. III. Título.

CASSIA DUARTE OLIVEIRA

AVALIAÇÃO BIOLÓGICA E APLICAÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS EM EMBALAGENS ATIVAS COMO ANTIOXIDANTES EM SALAME

BIOLOGICAL EVALUATION AND APPLICATION OF ESSENTIAL OILS IN ACTIVE PACKAGING AS ANTIOXIDANTS IN SALAMI

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 23 de fevereiro de 2024.

Dr. Eduardo Mendes Ramos	UFLA
Dr. Juliano Elvis de Oliveira	UFLA
Dr. David Lee Nelson	UFVJM
Dra. Maria da Graça Costa Miguel	UAlg

Profª. Drª. Maria das Graças Cardoso
Orientadora

Prof. Dr. Eduardo Mendes Ramos
Coorientador

LAVRAS - MG
2024

À minha avó, Rozária, por estar sempre apoiando-me e ajudando-me, pelo seu carinho e amor incondicional!
Aos meus pais, Adelir e Evandro, pelo amor incondicional, pelo carinho, apoio, por acreditar em mim e por não terem medido nenhum esforço para que mais um sonho se realizasse!!!
Ao meu irmão, Luís Fernando, pelo carinho, amor, amizade, paciência e pelo incentivo!!!
Aos meus padrinhos, Laura e Fernando, por todo o incentivo, amor e amizade!
Á minha orientadora, professora Doutora Maria das Graças, pelos ensinamentos, pela amizade e por ser um exemplo de professora!!!

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela minha vida, por todas as oportunidades, pela esperança, pela força concedida, por nunca me deixar desistir, nem desanimar, pela paciência, pela fé e por guiar sempre meus caminhos. Agradeço também pelas pessoas que Deus colocou em minha vida. Algumas delas me inspiram, me ajudam, me desafiam e me encorajam a ser cada dia melhor. Cada pessoa é um ser único e possui algum ensinamento para passar.

À Universidade Federal de Lavras, especialmente aos Departamentos de Ciência dos Alimentos e de Química; ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, pela oportunidade e por me permitirem desenvolver esta pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pois o presente trabalho foi realizado com seu apoio. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (Capes) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), pelo financiamento concedido para a realização deste projeto.

À minha orientadora, professora Doutora Maria das Graças Cardoso, pelos ensinamentos, pela amizade e por ser um exemplo de Professora!

Aos professores, Eduardo Mendes Ramos, Juliano Elvis de Oliveira, Luís Roberto Batista, Eduardo Alves e Khalid Hadi, por toda a dedicação, ajuda, paciência e disponibilidade em contribuir com esta pesquisa. Por cederem materiais, equipamentos e por terem aberto as portas dos laboratórios para que as análises fossem realizadas.

Ao professor, David Lee Nelson (UFVJM-MG), por sempre contribuir com nossos trabalhos.

Ao professor, Luíz Gustavo de Lima Guimarães (UFSJ-MG), pelo fornecimento dos equipamentos para as análises de caracterização das nanoemulsões.

Aos técnicos de laboratório, Maria Luísa, Luciano, Geraldo, Lidiany, Franciane e Aline, por todo suporte.

À minha avó, Rozária, por todo o carinho, amor e por sempre me incentivar a ir cada vez mais longe.

À minha mãe, Adelir, meu pai, Evandro, e meu irmão Luís Fernando, por s[illegible] em junto comigo e me apoiarem sempre.

Ao meu namorado, William, por todo o amor, paciência, motivação e por sempre me incentivar a ser uma pessoa cada vez melhor.

À minha família, tios e primos, em especial minha madrinha Laura e meu padrinho Fernando, por todo o suporte do início ao fim do doutorado.

Aos colegas do Laboratório de Química Orgânica – Óleos Essenciais e de Análise de Qualidade de Aguardente, pela amizade, companheirismo e auxílio na condução das análises.

Às amizades que Lavras me proporcionou: Ianca, Gabriela Fontes, João Pedro, Diana, Thamiris, Sofia, Luciano, Marcus, Giovana, Mateus e Bruna.

Ao pessoal dos Laboratórios de Carnes, Polímeros, Entomologia Molecular e Ecotoxicologia e Micotoxinas e Micologia de Alimentos da UFLA, por toda a acolhida.

Aos membros da banca, por aceitarem contribuir e participar do meu trabalho.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização de mais uma etapa de minha vida!

“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas, mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.” *(Carl Gustav Jung)*

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.” (José de Alencar)

RESUMO

Objetivou-se neste trabalho extrair e determinar a composição química dos óleos essenciais (OEs) de *Thymus vulgaris, Salvia officinalis* e *Ocimum basilicum*, avaliar a atividade antibacteriana desses OEs sobre *Salmonella choleraesuis* e *Listeria monocytogenes,* avaliar atividade antioxidante pelos métodos de eliminação do radical livre DPPH *e* branqueamento do β-caroteno, avaliar a atividade inseticida sobre a mosca *Drosophila suzukii*, produzir emulsões com o óleo essencial de tomilho utilizando dois surfactantes Tween 80 e Pluronic F127 e incorporá-las em filmes de pectina. Também foi estudada capacidade antioxidante dos filmes como potencial embalagem ativa aplicada no controle da oxidação lipídica de salaminhos fatiados. Os OEs foram extraídos por hidrodestilação e caracterizados por cromatografia em fase gasosa acoplado ao espectrômetro de massas. As emulsões de óleo essencial de tomilho foram produzidas por meio de agitação mecânica e sonicação de ponta ultrassônica e caracterizadas por meio do tamanho de partícula e do potencial zeta. Os filmes de pectina foram produzidos por *casting* e caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e por análise termogravimétrica (TGA). A atividade antioxidante dos filmes foi avaliada por meio do teste de estabilização do radical DPPH. Avaliaram-se os parâmetros de cor e compostos voláteis dos salaminhos fatiados durante 14 dias de armazenamento a 7 ºC. Os compostos majoritários presentes nos OEs de *T. vulgaris, S. officinalis* e *O. basilicum* foram Timol (62,67%), *ρ*-Cimeno (22,83%) e Carvacrol (4,64%); Cânfora (63,37%), β-Pineno (11,73%), e 1,8-Cineol (10,21); e (*E*)-Anetol (33,06%), Linalol (27,70%) e 1,8-Cineol (12,69), respectivamente. O OE de *T. vulgaris* foi o que apresentou maior atividade antioxidante frente as duas metodologias testadas e maior atividade antibacteriana sobre ambas as bactérias, sendo esse OE usado para a produção das emulsões. A análise do tamanho da partícula mostrou que todas as emulsões produzidas eram nanoemulsões e o potencial zeta mostrou ser estável. As eletromicrografias mostraram a presença de microporos, indicando que houve a incorporação de nanoemulsões contendo óleo essencial de *T. vulgaris* nos filmes de pectina. A eficiência da incorporação das nanoemulsões contendo OE nos filmes de pectina foi evidenciada e comprovada pelos resultados de FTIR e TGA e a atividade antioxidante dos filmes foi comprovada. Os filmes de pectina incorporados com nanoemulsões de óleo essencial de *T. vulgaris*, independentemente do surfactante utilizado, proporcionaram menor produção de aldeídos, especialmente hexanal e nonal, relacionados com a oxidação lipídica. Pelos resultados, infere-se que os filmes de pectina incorporados com nanoemulsões de OE de *T. vulgaris*, em estudo, podem ser promissores e aplicados como filmes ativos em alimentos no controle da oxidação lipídica, preservando a qualidade, bem como aumentando a vida útil dos produtos cárneos.

Palavras-chave: Produtos naturais; Oxidação; Tomilho; Salvia; Manjericão; Inseticida.

ABSTRACT

The objectives of this work were to extract and determine the chemical composition of essential oils (EOs) from *Thymus vulgaris*, *Salvia officinalis* and *Ocimum basilicum*, evaluate the antibacterial activity of these EOs on *Salmonella choleraesuis* and *Listeria monocytogenes*, evaluate antioxidant activity by free radical scavenging methods DPPH and β-carotene bleaching, evaluate the insecticidal activity on the *Drosophila suzukii* fly, produce emulsions with thyme essential oil using two surfactants Tween 80 and Pluronic F127 and incorporate them into pectin films. The antioxidant capacity of the films was also studied as a potential active packaging applied to control lipid oxidation of sliced salami. The EOs were extracted by hydrodistillation and characterized by gas chromatography coupled to a mass spectrometer. Thyme essential oil emulsions were produced using mechanical stirring and ultrasonic tip sonication and characterized using particle size and zeta potential. The pectin films were produced by casting and characterized by scanning electron microscopy (SEM), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and thermogravimetric analysis (TGA). The antioxidant activity of the films was evaluated using the DPPH radical stabilization test. The color parameters and volatile compounds of sliced salami were evaluated during 14 days of storage at 7 ºC. The major compounds present in the EOs of *T. vulgaris*, *S. officinalis* and *O. basilicum* were thymol (62.67%), ρ-cymene (22.83%) and carvacrol (4.64%); camphor (63.37%), β-pinene (11.73%), and 1,8-cineole (10.21); and (E)-anethole (33.06%), linalool (27.70%) and 1,8-cineole (12.69), respectively. The EO from *T. vulgaris* was the one with the highest antioxidant activity compared to the two methodologies tested and the highest antibacterial activity against both bacteria, and this EO was used for the production of emulsions. Particle size analysis showed that all emulsions produced were nanoemulsions and the zeta potential was shown to be stable. The electron micrographs showed the presence of micropores, indicating the incorporation of nanoemulsions containing *T. vulgaris* essential oil into the pectin films. The efficiency of incorporation of EO-containing nanoemulsions into pectin films was evidenced and confirmed by FTIR and TGA results and the antioxidant activity of the films was proven. Pectin films incorporated with T. vulgaris essential oil nanoemulsions, regardless of the surfactant used, provided lower production of aldehydes, especially hexanal and nonal, related to lipid oxidation. The results indicated that pectin films incorporated with *T. vulgaris* EO nanoemulsions, under study, may be promising and applied as active films in foods to control lipid oxidation, preserving the quality, as well as increasing the shelf life of meat products.

Keywords: Natural products; Oxidation; Thyme; Sage; Basil; Insecticide.

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE.....11
1 INTRODUÇÃO 12
2 REFERENCIAL TEÓRICO 14
2.1 Condimentos e especiarias 14
2.1.1 Tomilho (*Thymus vulgaris*) 14
2.1.2 Manjericão (*Ocimum basilicum* L.) 15
2.1.3 Sálvia (*Salvia officinalis* L.) 16
2.2 Metabólitos secundários 16
2.2.1 Óleos essenciais 18
2.3 Contaminação e deterioração alimentar 30
2.3.1 Bactérias patogênicas 31
2.3.2 *Drosophila suzukii* 32
2.3.3 Oxidação lipídica 33
2.4 Salame 37
2.4.1 Salaminho 39
2.5 Nanotecnologia 41
2.5.1 Nanoemulsões 41
2.5.1.1 Surfactantes 42
2.5.1.2 Produção de nanoemulsões 44
2.6 Embalagens ativas 46
2.6.1 Pectina 47
2.6.2 Filmes de pectina 48
REFERÊNCIAS 50
SEGUNDA PARTE - ARTIGOS 61
ARTIGO 1 - The antibacterial, antioxidant and insecticidal activities of essential oils from *Thymus vulgaris* L., *Salvia officinalis* L., and *Ocimum basilicum* L. 62
ARTIGO 2 - Desenvolvimento e caracterização de filmes de pectina incorporados com nanoemulsões de óleo essencial de *Thymus vulgaris* para preservação de salaminhos 96
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS 138

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

A segurança de alimentos é um assunto que gera bastante preocupação, pois muitos alimentos são susceptíveis à contaminação e deterioração microbiológica e à oxidação lipídica. A indústria de alimentos busca diversas formas de evitar a perda de qualidade dos produtos durante toda a cadeia produtiva com o objetivo de garantir a satisfação do consumidor e reduzir perdas no mercado.

Para evitar essas deteriorações e contaminações causadas por patógenos, os produtos sintéticos são utilizados; no entanto, esses produtos podem causar efeitos adversos ao organismo humano. Dessa forma, a busca por produtos naturais que não sejam tóxicos e que possam ser utilizados associados aos produtos sintéticos, ou até mesmo substituí-los tem sido tema de diversos estudos.

Os óleos essenciais são metabólitos secundários das plantas, constituídos por terpenos e fenilpropanoides, com atividades biológicas comprovadas, como antioxidante, inseticida, antimicrobiano, antitumoral, entre outras, e vêm se destacando como alternativa ao uso de produtos sintéticos. No entanto, na área de alimentos, a utilização dos óleos essenciais é complexa, devido ao seu sabor e odor característico. Dessa forma, a nanotecnologia vem sendo uma alternativa para o uso dos óleos essenciais na área de alimentos, uma vez que torna seu uso mais extensivo.

As nanoemulsões de óleos essenciais, por possuírem pequeno tamanho, apresentam algumas características desejáveis para serem utilizadas na área de alimentos, como boa transparência, alta área superficial e boa estabilidade. Quando as nanoemulsões preparadas com compostos bioativos são incorporadas em filmes de biopolímeros degradáveis, esses compostos são liberados gradativamente para os alimentos, aumentando a vida útil dos produtos alimentícios devido às propriedades biológicas desses compostos ativos.

Embalagens ativas são aquelas em que um agente ativo, como antioxidante ou agente antimicrobiano é incorporado na embalagem em vez de ser adicionado diretamente ao alimento. Filmes de pectina incorporados com compostos bioativos são utilizados em alimentos, por possuírem características desejáveis como serem obtidos de resíduos alimentares, não serem tóxicos e serem biodegradáveis. Esses filmes vêm sendo estudados por serem uma alternativa aos filmes PVC, para reduzir o descarte no ambiente.

Objetivou-se neste trabalho extrair e caracterizar os constituintes químicos dos óleos essenciais de *Thymus vulgaris, Salvia officinalis* e *Ocimum basilicum*; avaliar as atividades

biológicas desses óleos por meio de testes antioxidantes, antibacterianos e inseticida; produzir emulsões de óleo essencial de *Thymus vulgaris* utilizando as técnicas de agitação mecânica e sonicação de ponta ultrassônica com os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, e caracterizá-las físico-quimicamente; produzir filmes de pectina incorporados com emulsões de óleo essencial de *Thymus vulgaris* e caracterizá-los físico-quimicamente, bem como aplicar esses filmes ativos em salaminhos fatiados para o controle da oxidação lipídica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Condimentos e especiarias

2.1.1 Tomilho (*Thymus vulgaris*)

Thymus vulgaris (tomilho), Figura 1, é uma planta herbácea, perene pertencente à família Lamiaceae e nativa do sul da Europa. É consumido mundialmente sob forma de condimento, especiaria e infusão, e isso se deve às características aromatizantes e à presença de compostos bioativos, como os compostos fenólicos, que possuem propriedades antioxidantes (ARPANAHI *et al*., 2020; BISTGANI *et al*., 2019; SEYEDI; REEZI, 2024).

Figura 1 – Condimento alimentar tomilho.

Fonte: Do Autor (2024).

Além de ser empregado como agente aromatizante, o tomilho é utilizado na medicina tradicional como expectorante, carminativo, diurético, antibroncolítico, antiespasmódico e anti-helmíntico. Por possuir propriedades antipatogênicas e antioxidantes, o óleo essencial de tomilho pode ser utilizado na produção de medicamentos, cosméticos, produtos agrícolas e alimentos (BISTGANI *et al*., 2019; MORSY, 2020; NABISSI *et al*., 2018; SHMEIT *et al*., 2020).

O timol, principal composto ativo presente no óleo essencial de tomilho, confere a esse óleo outras propriedades, como antibacteriana, antifúngica, antisséptica, anestésica local, anti-inflamatória e imunomoduladora, permitindo que esse possa ser aplicado em diferentes áreas (GUO *et al*., 2024; SALEHI *et al*., 2018; SHMEIT *et al*., 2020). Golkar, Mosava e Jalali (2020) e Tohidi *et al*. (2020) mostraram que a utilização do óleo essencial de tomilho como substituinte dos antioxidantes sintéticos na indústria de alimentos é promissora, devido à sua boa capacidade antioxidante observada nos testes *in vitro*.

2.1.2 Manjericão (*Ocimum basilicum* L.)

Ocimum basilicum L**.** (manjericão), Figura 2, é uma planta rasteira pertencente à família Lamiaceae. Foi originalmente encontrado na Ásia tropical e subtropical e é cultivada mundialmente, principalmente como condimento alimentar. O gênero Ocimum compreende um grande número de variedades, com mais de 150 espécies (ALKUWAYTI *et al*., 2020; YAMANI; ALI, 2023).

Figura 2 – Condimento alimentar manjericão.

Fonte: Do Autor (2024).

A comercialização do manjericão pode ser feita tanto na forma fresca quanto seca, e a alta demanda é devido à sua importância econômica e culinária. As folhas frescas são muito utilizadas para temperar alimentos, como molhos e massas. Além da utilização na culinária, o manjericão é empregado na aromaterapia e na medicina popular para o tratamento de doenças, como gota, bronquite, dores de cabeça, garganta e dente, tosse, diarreia, disfunções renais, constipação e verrugas (AHMED *et al*., 2019a; BAHCESULAR *et al*., 2020).

Já foram encontrados nos óleos essenciais e nos extratos de manjericão terpenos, fenilpropanoides, compostos fenólicos, flavonoides, antocianinas, saponinas, ácidos rosmarínico e cinâmico. O óleo essencial de manjericão pode ser extraído das diferentes partes da planta, como das flores e das folhas e possui aplicação em diferentes áreas, como na indústria de alimentos (aditivo alimentar), na farmacêutica e de cosméticos devido às propriedades antioxidantes, antimicrobianas, anti-inflamatórias e antiedermatogênicas (AHMED *et al*., 2019a; YAMANI; ALI, 2023).

2.1.3 Sálvia (*Salvia officinalis* L.)

Salvia officinalis L.(sálvia), Figura 3, é um arbusto lenhoso e perene, pertencente à família Lamiaceae, nativa da região Mediterrânea e cultivada mundialmente. No Brasil, o gênero *Salvia* compreende 68 espécies, encontradas nas Regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste (BABAEI-GHAGHELESTANY *et al*., 2023; MENDES *et al*., 2020).

Por possuir em sua composição óleos essenciais, flavonoides e compostos fenólicos (ácido carnósico, ácido rosmarínico, carnosol, entre outros), a sálvia pode ser utilizada em diversos setores, como farmacêutico, alimentos e cosméticos (MENDES *et al*., 2020; ŠOJIĆ *et al*., 2018).

Figura 3 – Condimento alimentar sálvia.

Fonte: Do autor (2024).

A sálvia é muito utilizada na medicina popular para o tratamento de doenças, como convulsões, gota, reumatismo, diarreia, inflamações, hiperglicemia e cicatrização de feridas (KHIYA *et al*., 2019; WEI *et al*., 2018). Esses efeitos medicinais são associados à presença de compostos antioxidantes presentes no extrato e no óleo essencial. A sálvia possui outras propriedades que são anti-inflamatórias, anticâncer, antifúngicas, antiproliferativas, além de possuir capacidade de melhorar a memória. Essa capacidade antioxidante da sálvia é devido à presença dos numerosos compostos bioativos, principalmente os polifenóis (NUTRIZIO *et al*., 2020; WEI *et al*., 2018).

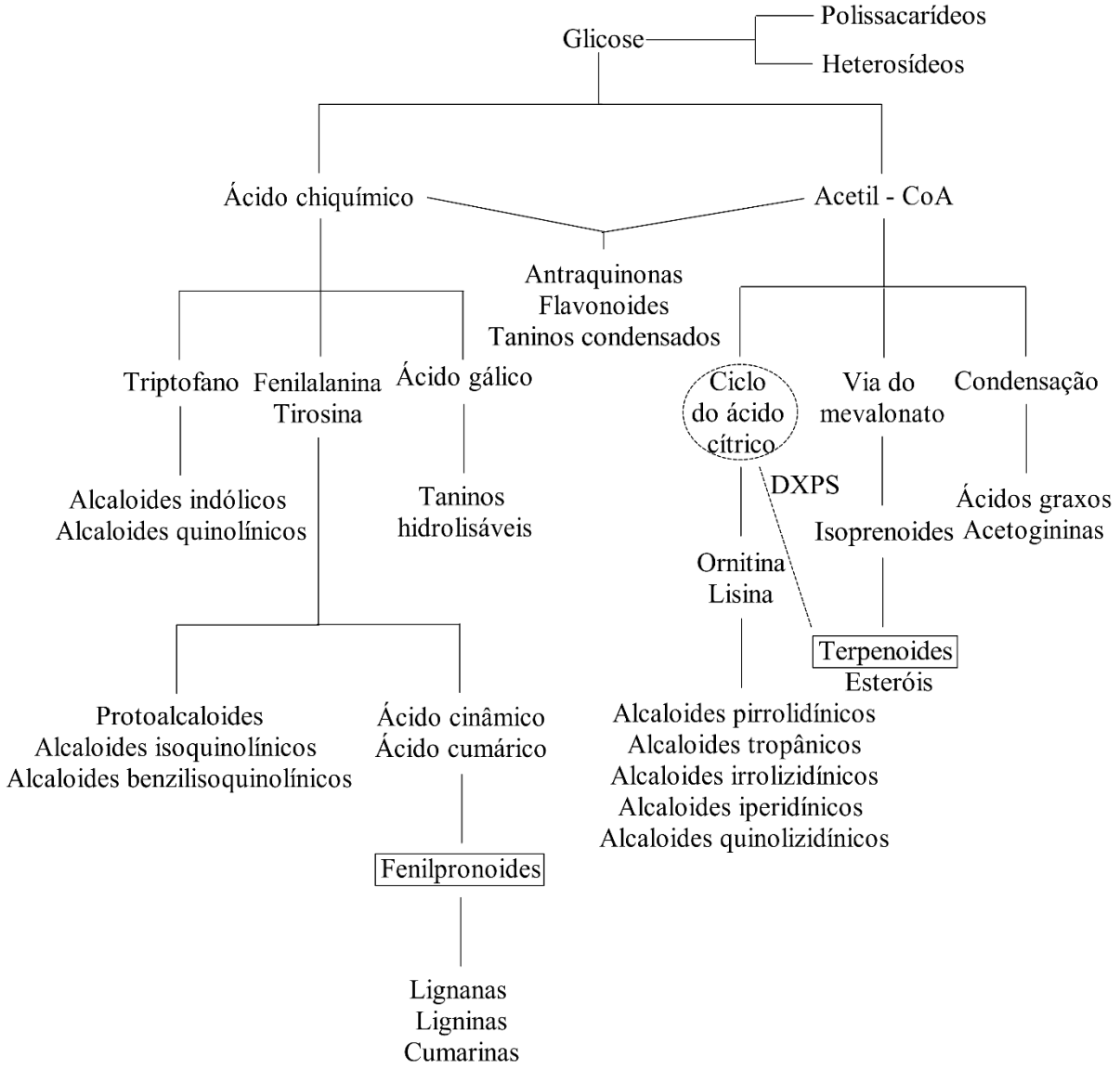
2.2 Metabólitos secundários

Atualmente, as plantas vêm sendo estudadas e empregadas em diversas áreas devido à sua constituição química, o que lhes confere diferentes propriedades. Esses constituintes

químicos complexos são denominados metabólitos secundários Diferentemente do metabolismo primário, aquele responsável pela formação de proteínas, lipídeos, carboidratos, ácidos nucleicos e outras substâncias importantes na realização das funções vitais dos seres vivos, o metabolismo secundário é responsável por sintetizar substâncias que não estão envolvidas com a geração de energia ou desenvolvimento do organismo, mas que atuam em funções indispensáveis para as interações ecológicas entre as espécies vegetais e o meio ambiente. Como metabólitos secundários, destacam-se alcaloides, antocianias, flavonoides, quinonas, lignanas, taninos, esteroides, terpenoides e óleos essenciais (NAKAMURA *et al*., 2019; SIMÕES *et al*., 2017; THAKUR *et al*., 2019; TOHIDI; RAHIMMALEK; TRINDADE, 2019).

A glicose é precursora básica dos metabólitos secundários. O catabolismo da glicose pode ser dividido em duas rotas, sendo a primeira a partir do intermediário ácido chiquímico, e a segunda por meio do intermediário acetil-coA, conforme apresentado na Figura 4. A rota do ácido chiquímico é responsável pela formação de compostos que apresentam em sua estrutura um anel aromático, como os taninos hidrolisáveis, cumarinas, alcaloides derivados de aminoácidos aromáticos e fenilpropanoides. Por meio da rota do acetil-CoA, são formados os terpenos, esteróis, ácidos graxos, triglicerídeos, aminoácidos alifáticos e os alcaloides derivados deles. Alguns metabólitos secundários derivam de ambos os intermediários, como é o caso das antraquinonas, flavonoides e taninos condensados, que resultam da combinação de uma unidade de ácido chiquímico e uma ou mais unidades de acetato ou derivados (SIMÕES *et al*., 2017).

Figura 4 – Metabolismo da glicose pelas vias do ácido chiquímico e do acetil-CoA.



Fonte: Simões *et al*. (2017).

Esses metabólitos secundários são desenvolvidos por meio de processos fisiológicos e bioquímicos, que conferem às plantas essas propriedades aromáticas e medicinais (MAHAJAN; KUIRY; PAL, 2020). Os metabólitos secundários presentes nos óleos essenciais são armazenados em órgãos celulares internos, como os vacúolos ou glândulas secretoras especiais, sendo o estágio secretório dependente da parte da planta, do seu desenvolvimento e da variação de sazonalidade (DIMA; DIMA, 2015; KHOSHSOKHAN *et al*., 2014).

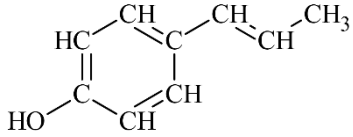
2.2.1 Óleos essenciais

Os óleos essenciais, também conhecidos como óleos voláteis, possuem como características serem líquidos hidrofóbicos aromáticos. Podem ser extraídos de diversas partes das plantas, como raízes, flores, brotos, frutas, sementes, folhas e galhos. Esses óleos voláteis, óleos etéreos ou essenciais são definidos pela ISO (International Standard Organization) como produtos obtidos de partes de plantas por meio de destilação com arraste por vapor d'água, bem como os produtos obtidos por espremedura dos pericarpos de frutos cítricos. As principais diferenças entre os óleos essenciais e os óleos fixos são a volatilidade e a composição (CUI *et al*., 2020; SIMÕES *et al*., 2017).

Após a extração, os óleos essenciais geralmente são incolores ou ligeiramente amarelados e possuem como características serem instáveis na presença de ar, luz, calor e umidade. Além disso, são solúveis em solventes lipofílicos, como éter de petróleo, clorofórmio, éter e etanol e possuem sabor pungente, acre (ácido) e picante (SIMÕES *et al*., 2017).

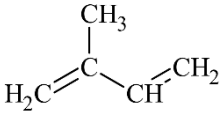
Por serem constituídos de uma mistura complexa de compostos orgânicos e por possuírem características aromáticas e químicas, nas plantas, possuem funções de atração de insetos e polinizadores benéficos, proteção de estresse ambiental, como, por exemplo, calor e frio e proteção contra pragas e microrganismos. Quimicamente, grande parte de seus componentes apresentam estrutura de fenilpropanoides (Figura 5) e de terpenos, que são formados pela condensação de duas ou mais unidades de isopreno (Figura 6) (FALLEH *et al*., 2020; SIMÕES *et al*., 2017).

Figura 5 – Estrutura química de um fenilpropanoide.



Fonte: Simões *et al*. (2017).

Figura 6 – Estrutura química do isopreno.



Fonte: Simões *et al*. (2017).

Os fenilpropanoides são compostos fenólicos formados pela via do ácido chiquímico e possuem, como percursores, diferentes aminoácidos aromáticos. O ácido chiquímico é formado por meio da condensação dos metabólitos da glicose, o fosfoenolpiruvato e a eritrose-4-fostato. A reação que ocorre entre uma molécula de ácido chiquímico e uma molécula de

fosfoenolpiruvato possui como produto o ácido corísmico. A partir do ácido corísmico, ocorre a formação dos aminoácidos aromáticos fenilalanina e tirosina, os quais por meio de ação enzimática e perda de uma molécula de amônia, produz os ácidos cinâmicos e *p*-cumárico. Após reações de redução, oxidação e ciclização dos ácidos cinâmicos e *p*-cumárico, são obtidos os fenilpropanoides (Figura 7) (SIMÕES *et al*., 2017).

Figura 7 – Biossíntese de fenilpropanoides. (Continua)

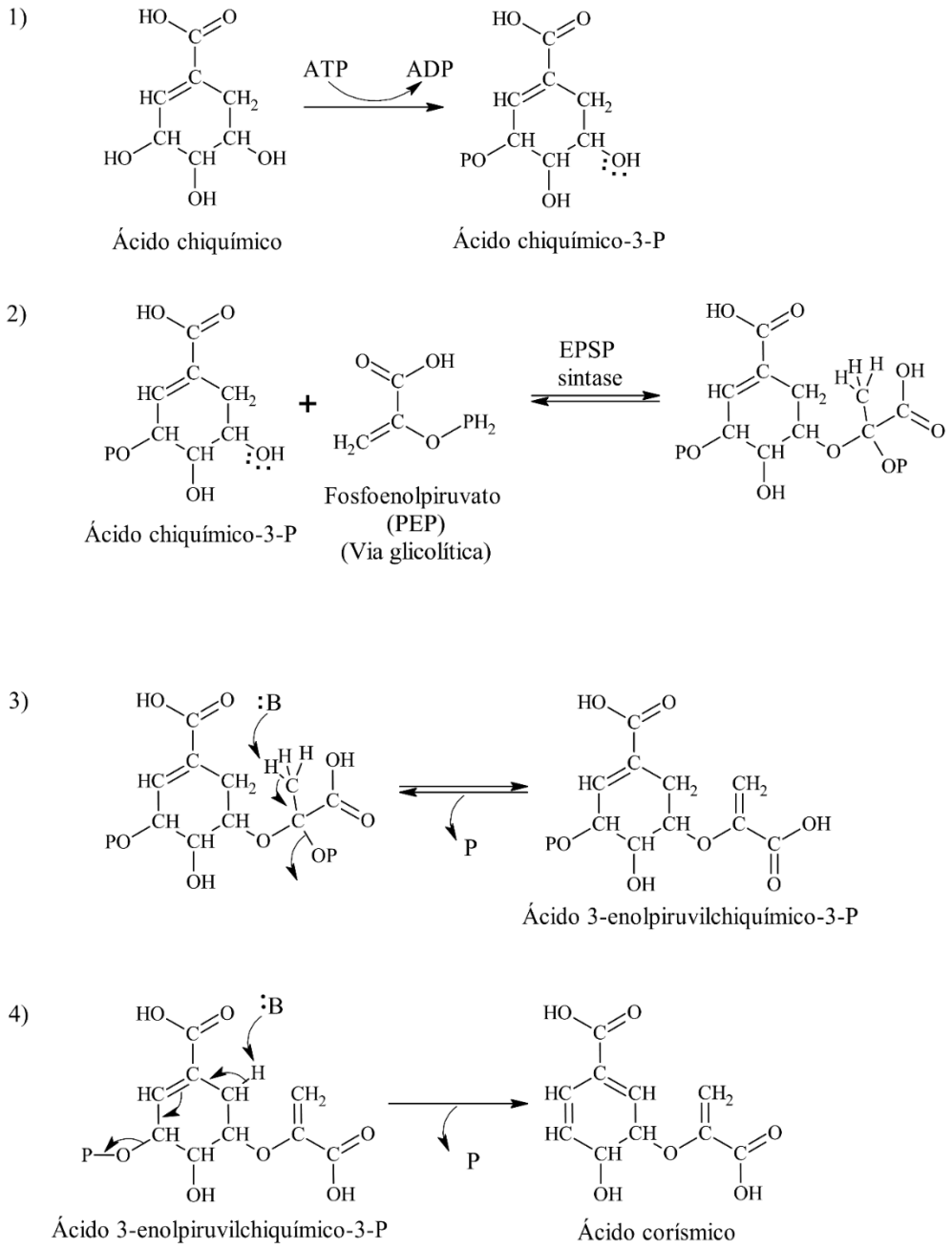
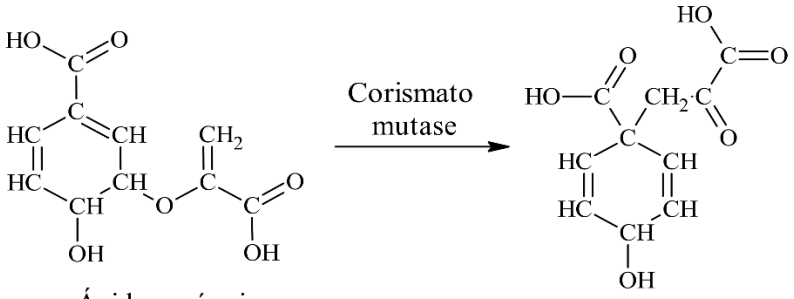


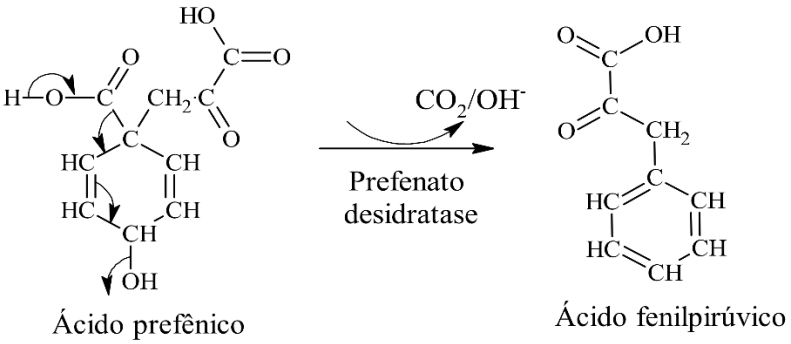
Figura 7 – Biossíntese de fenilpropanoides. (Continua)

Síntese do aminoácido fenilalanina

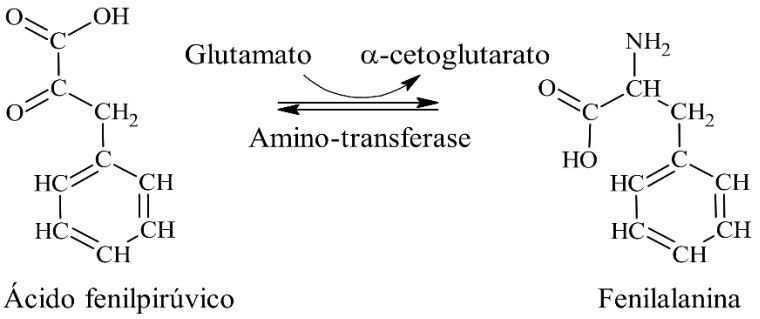
5)



6)



7)



Síntese do aminoácido tirosina

8)

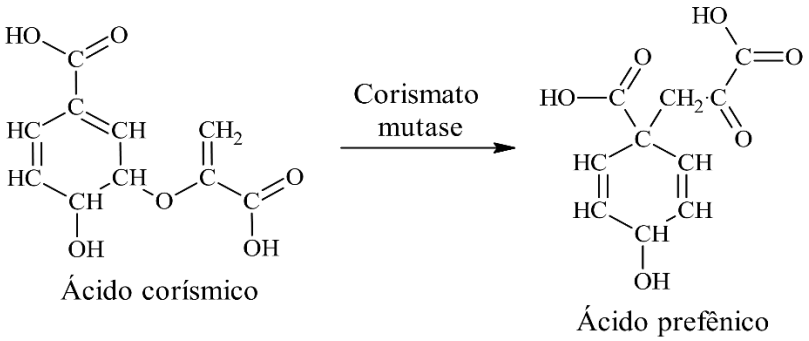
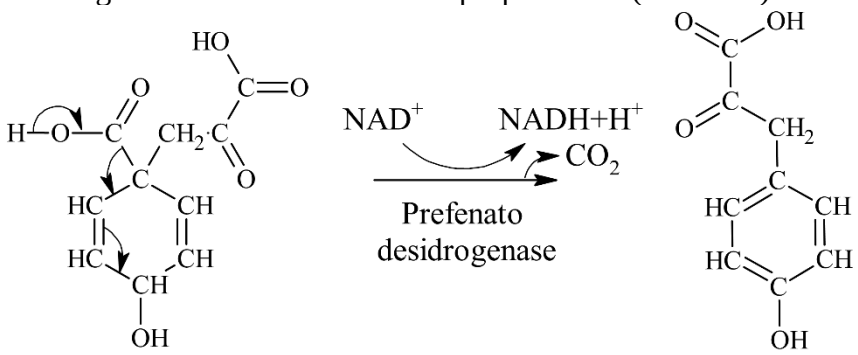


Figura 7 – Biossíntese de fenilpropanoides. (Continua)

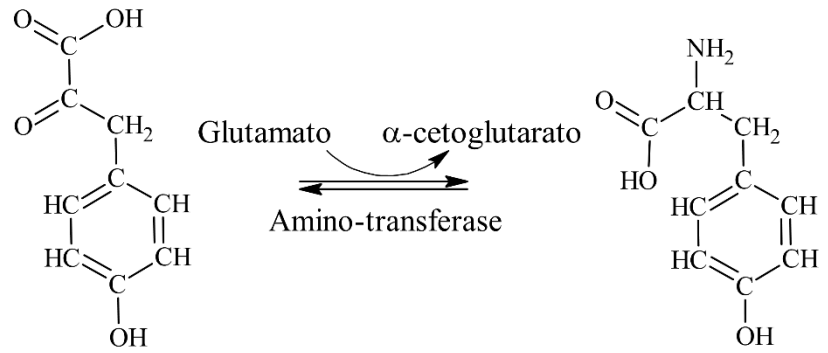
9)



Ácido prefênico

Ácido 4-hidroxifenilpirúvico

10)

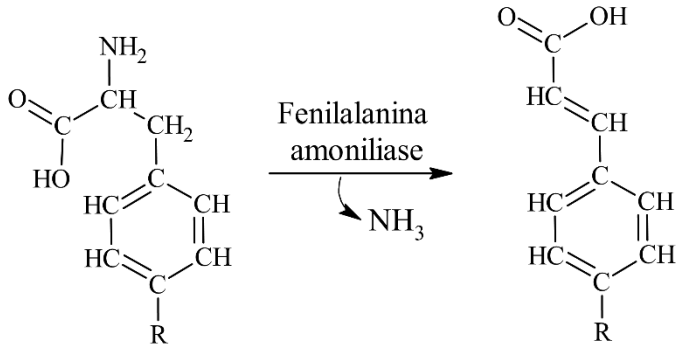


Ácido 4-hidroxifenilpirúvico

Tirosina

Síntese dos fenilpropanoides a partir dos aminoácidos fenilalanina e tirosina

11)

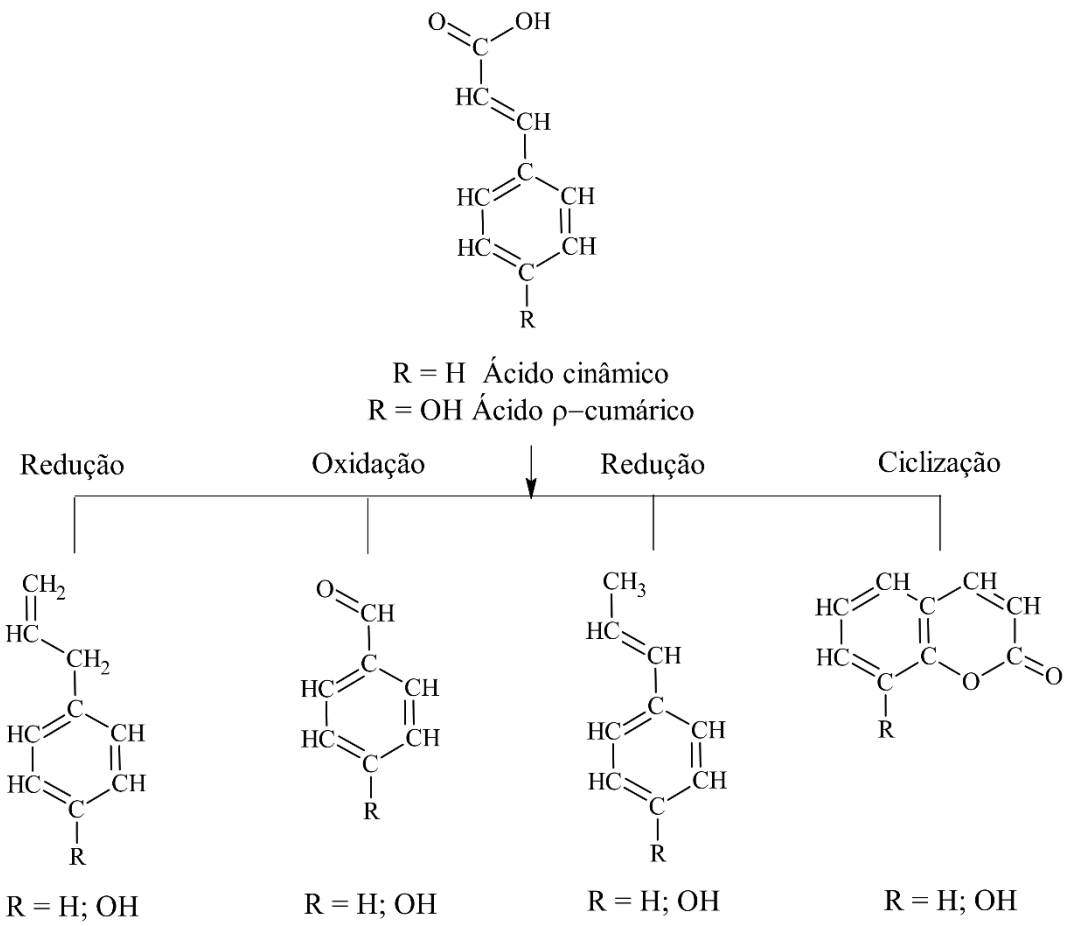


R = H Fenilalanina
R = OH Tirosina

R = H Ácido cinâmico
R = OH Ácido cumárico

Figura 7 – Biossíntese de fenilpropanoides. (Conclusão)

12)



Fonte: Adaptado de Teixeira (2016).

Diferentemente dos fenilpropanoides, os terpenos são sintetizados pela via do acetato, por meio de duas rotas principais distintas, sendo a primeira a rota do mevalonato, que ocorre no citosol, e a segunda, a rota do DXPS (1-deoxi-D-xilulose-5-fosfato), que ocorre nos plastídeos. Todos os terpenos são biossintetizados a partir do isopentenil difosfato (IPP) e seu isômero dimetilalil difosfato (DMAPP). No citosol, o IPP e o DMAPP são formados pela condensação de moléculas de acetil-CoA, dando origem ao ácido mevalônico, que será pirofosforilado, descaboxilado e desidratado, de forma a gerar os precursores dos terpenos (Figura 8) (DEWICK, 2009; SIMÕES *et al*., 2017).

Figura 8 – Via do mevalonato para a formação do isopentenil difosfato (IPP) e do dimetialildifosfato (DMAPP). (Continua**)**

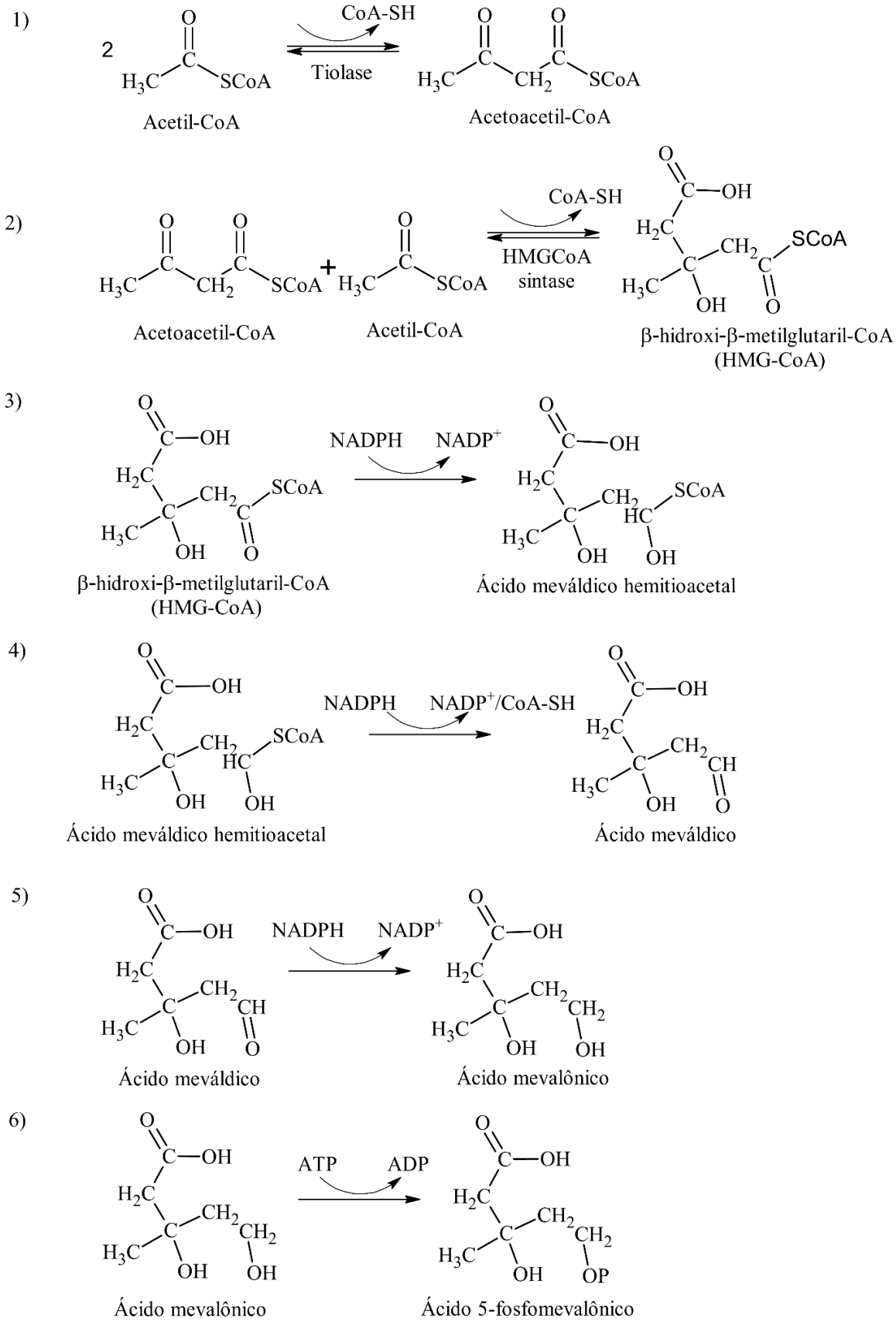
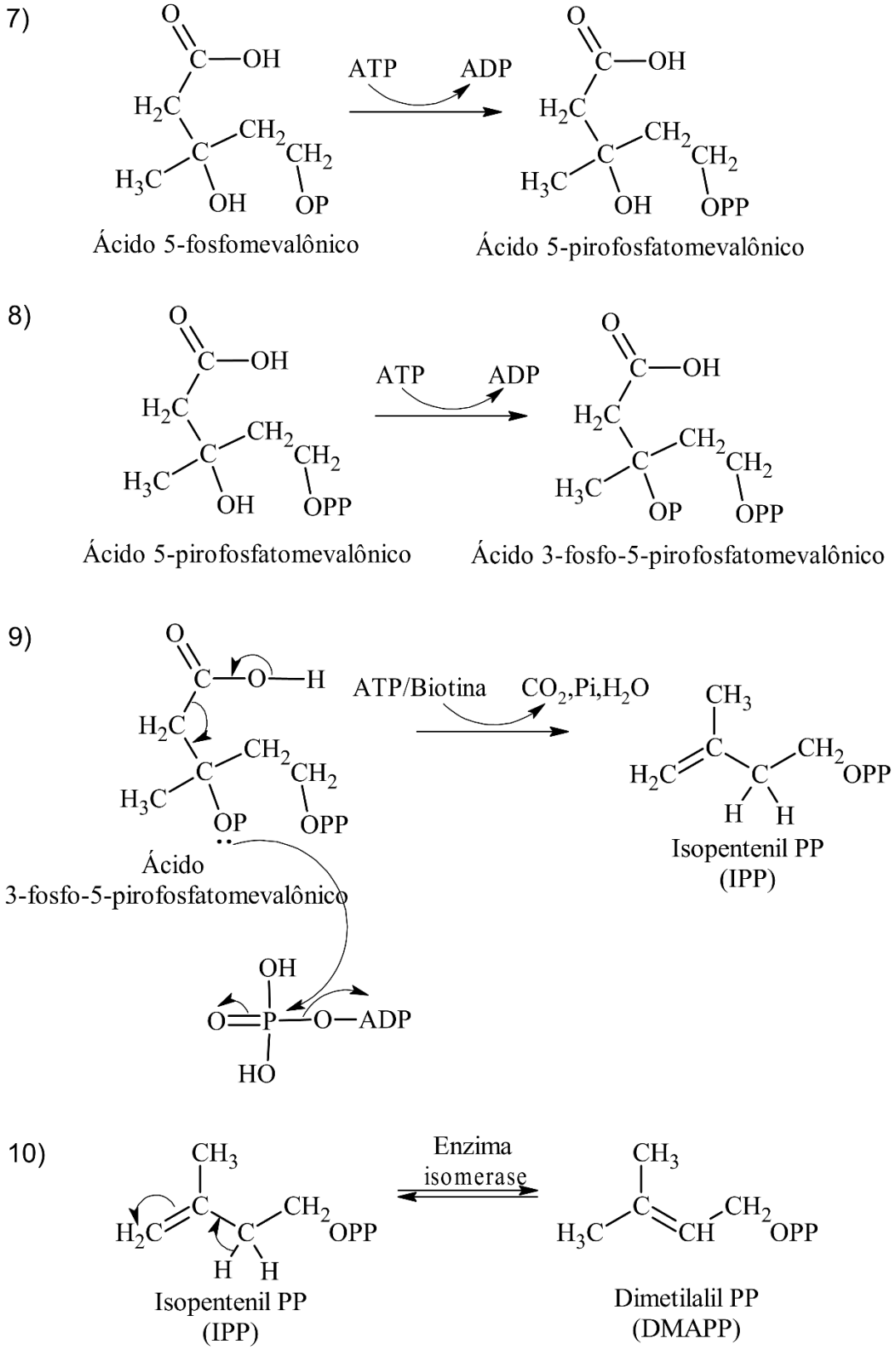


Figura 8 – Via do mevalonato para a formação do isopentenil difosfato (IPP) e do dimetialil difosfato (DMAPP). (Conclusão)



Fonte: Adaptado de Teixeira (2016).

Nos plastídeos, os isoprenos isômeros são formados a partir do piruvato e gliceraldeído-3 fosfato, que após algumas reações, formam o 2-C-metil-D-eritritol-4-fosfato, e a partir de reações subsequentes, são obtidos o IPP e o DMAPP (Figura 9) (DEWICK, 2009; SIMÕES *et al*., 2017).

Figura 9 – Mecanismo de formação das unidades isoprênicas ativas, dimetilalil difosfato (DMAPP) e isopentenil difosfato (IPP), pela via da 1-deoxi-D-xilulose-5 fosfato (DXPS). (Continua)

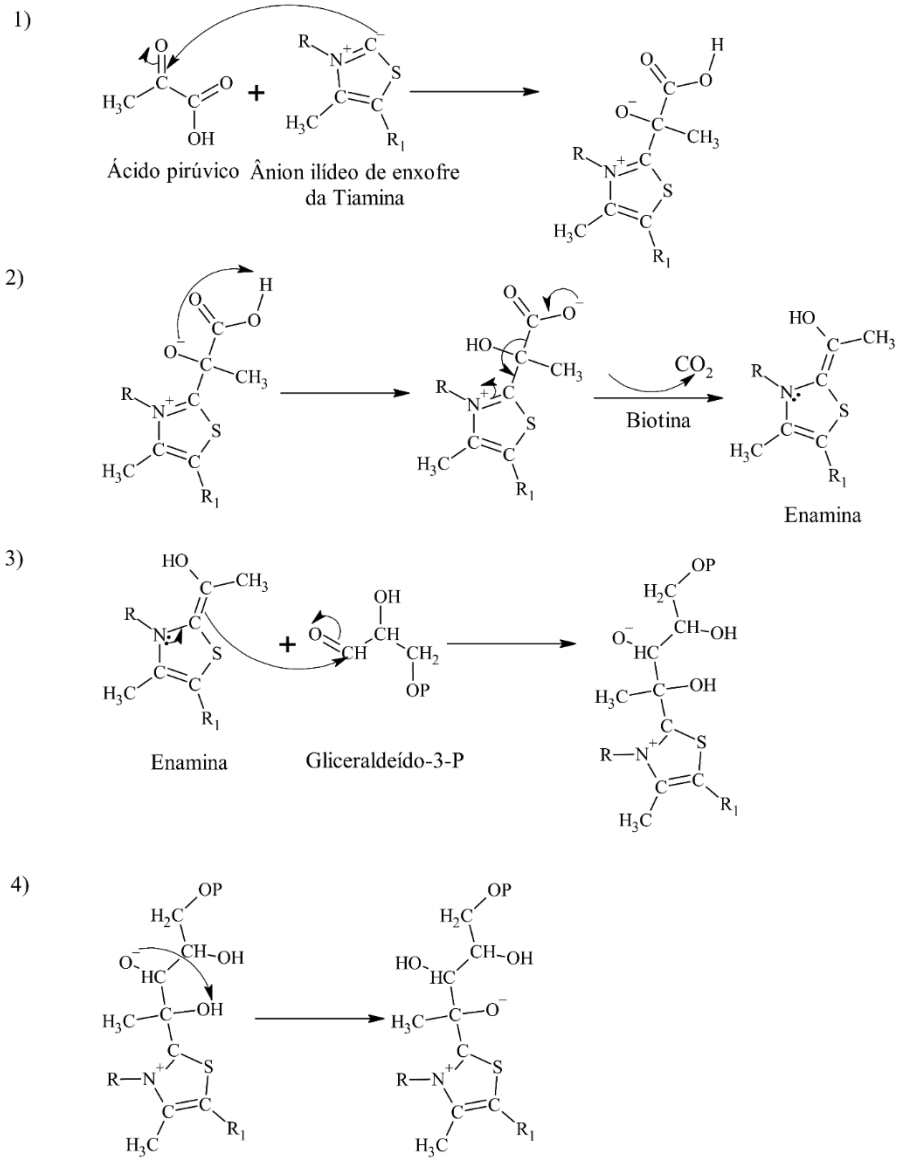


Figura 9 – Mecanismo de formação das unidades isoprênicas ativas, dimetilalil difosfato (DMAPP) e isopentenil difosfato (IPP), pela via da 1-deoxi-D-xilulose-5 fosfato (DXPS). (Continua)

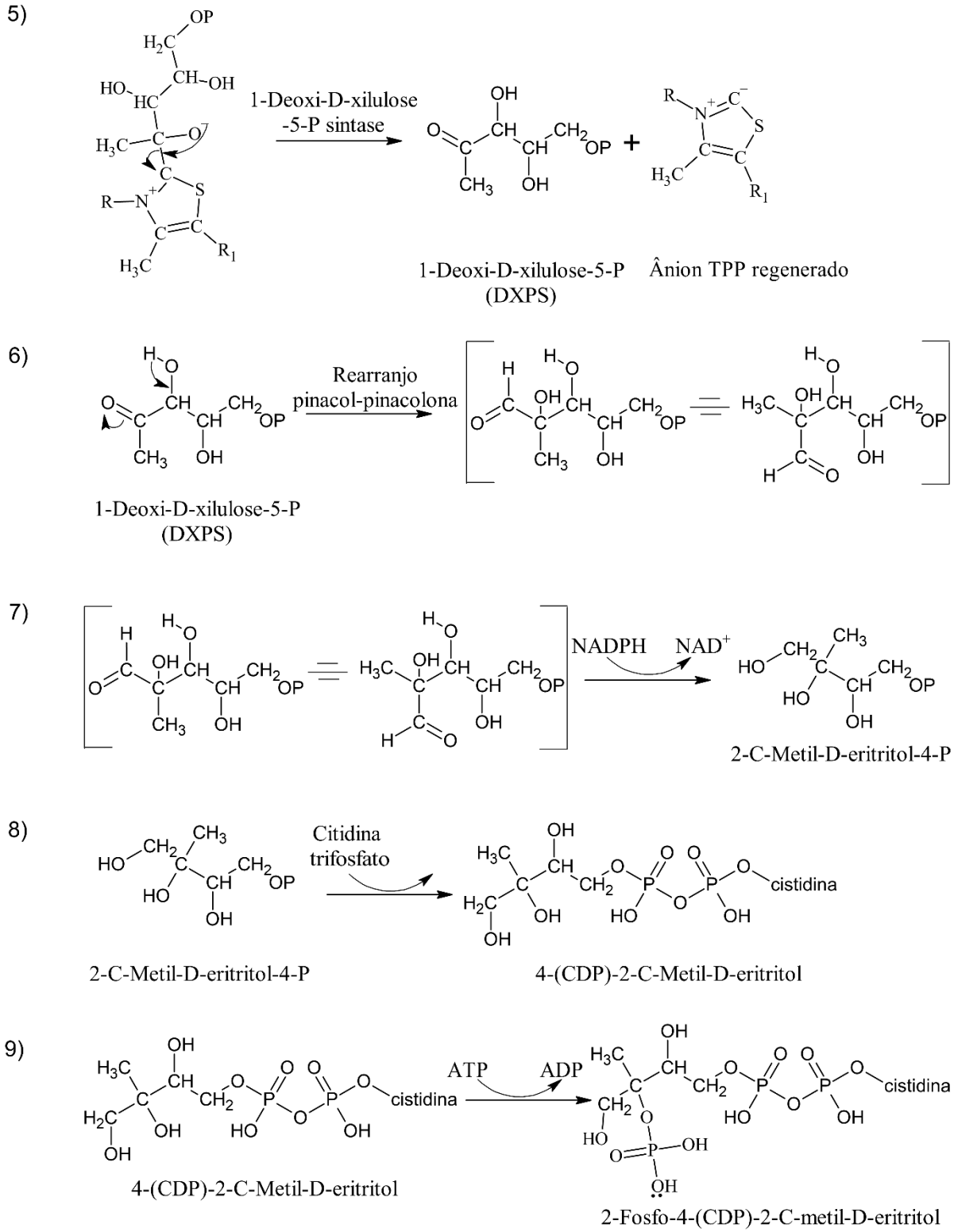
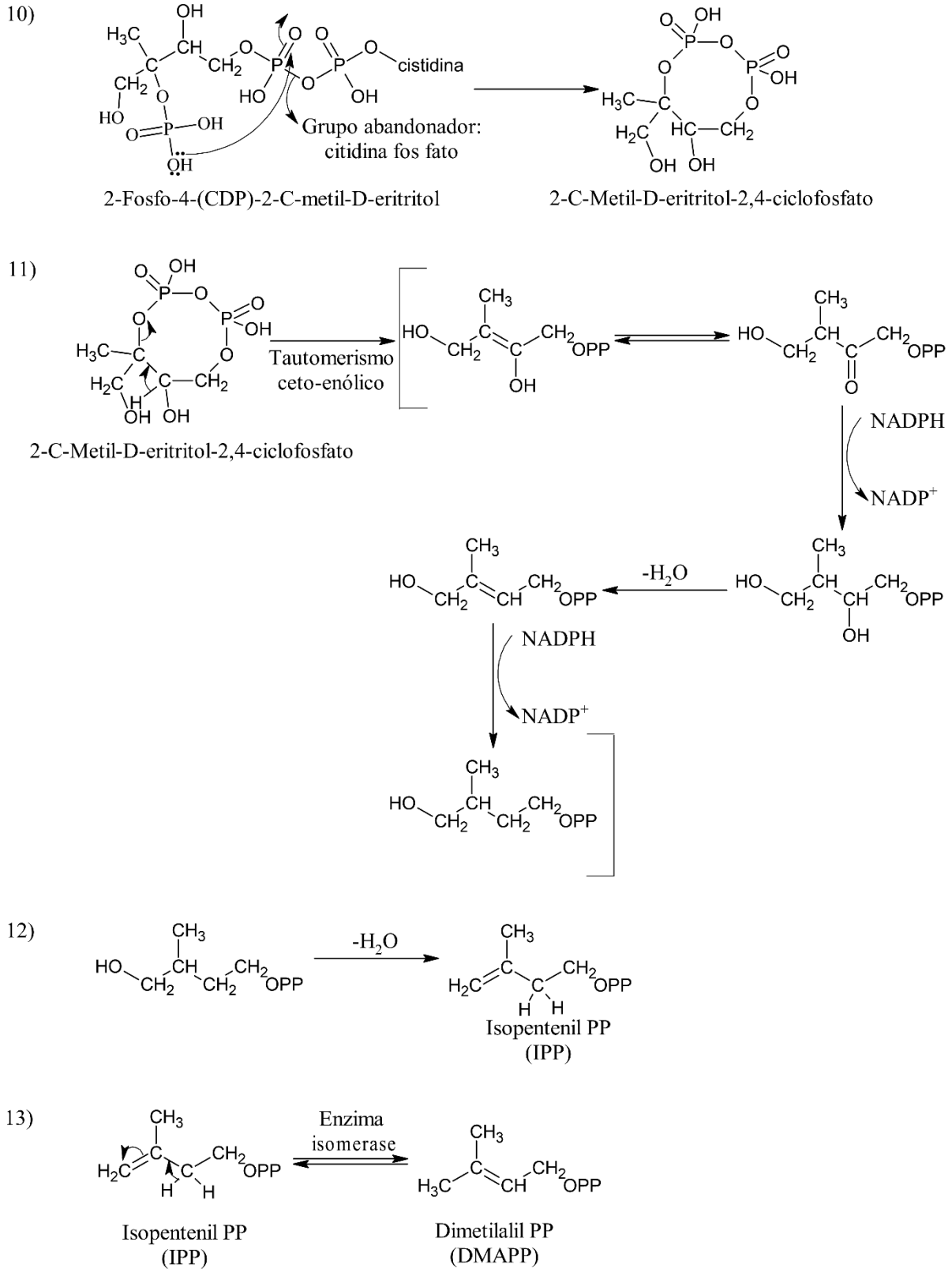


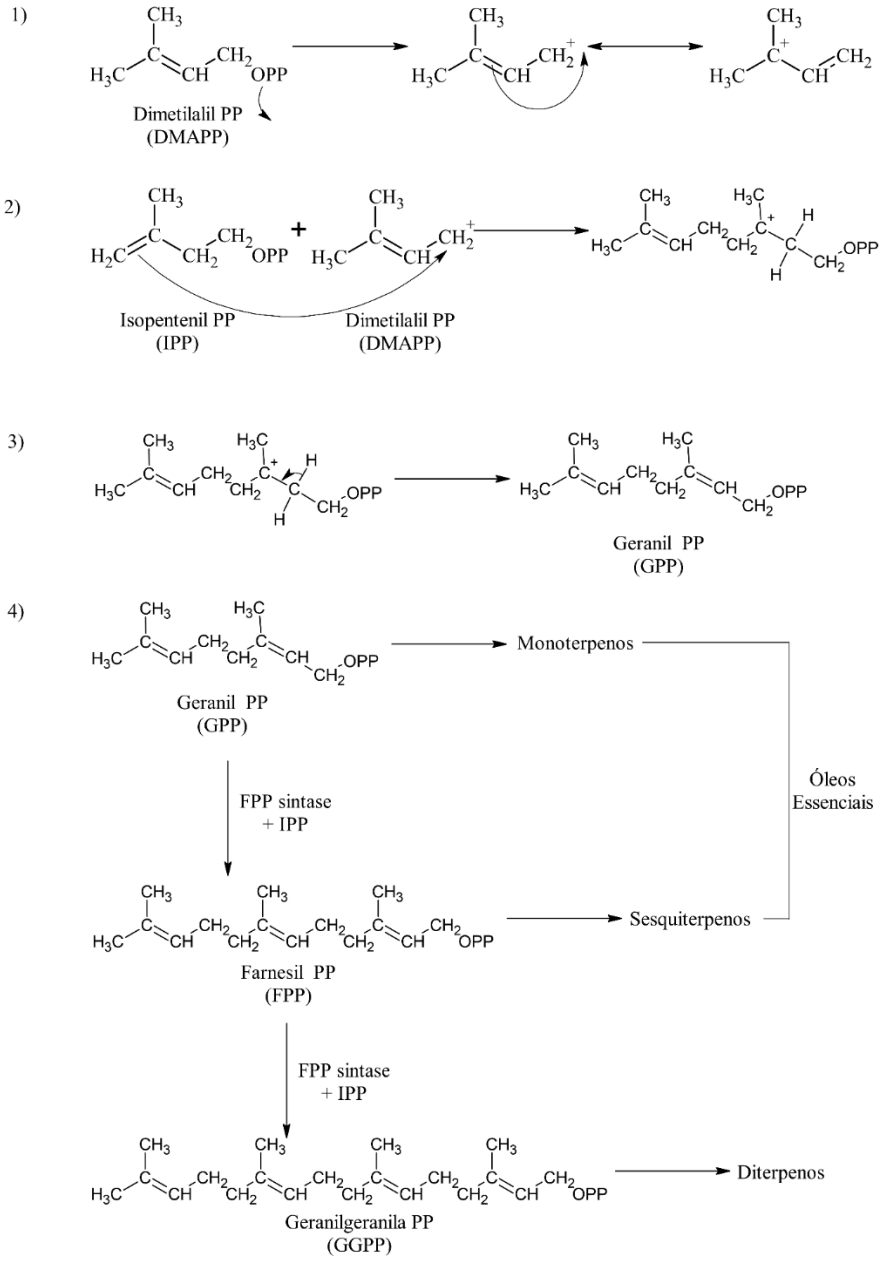
Figura 9 – Mecanismo de formação das unidades isoprênicas ativas, dimetilalil difosfato (DMAPP) e isopentenil difosfato (IPP), pela via da 1-deoxi-D-xilulose-5 fosfato (DXPS). (Conclusão)



Fonte: Adaptado de Teixeira (2016).

Os terpenos estão presentes em diversos vegetais e são derivados de unidades de isoprenos (C5), biossintetizados a partir do IPP (cabeça) e DMAPP (cauda), como apresentado na Figura 10. A partir dessas ligações, são obtidos diferentes terpenos, que apresentam número de carbonos múltiplos de 5, sendo classificados como monoterpenos (C10), tendo como precursor o *trans*-geranildifosfato (GPP), sesquiterpenos (C15), como o farnesil difosfato (FPP), diterpenos (C20), como o geranil geranil difosfato (GGPP), e assim sucessivamente, formando os triterpenos (C30) e tetraterpenos (C40) (DEWICK, 2009; SIMÕES *et al*., 2017).

Figura 10 – Biossíntese dos terpenos.



Fonte: Adaptado de Teixeira (2016).

Os monoterpenos e os sesquiterpenos constituem a maioria dos componentes dos óleos essenciais extraídos por processo de destilação. Já os diterpenos, principalmente quando o oxigênio está presente na molécula, são encontrados em óleos que são obtidos por processo de extração utilizando fluido supercrítico ou solventes (DEWICK, 2009; SIMÕES *et al*., 2017).

A composição química dos óleos essenciais é variável devido à influência de diversos fatores, como características genéticas, estágio de desenvolvimento, propriedades do solo, condições ambientais, clima, tempo de colheita, armazenamento e parte da planta na qual é estocado (HONORATO *et al*., 2023; HOSSEINI *et al*., 2021). Devido a essa variada composição, os óleos essenciais possuem diversas propriedades, como antioxidante, anti-inflamatório, antimicrobiana, inseticida, antitumoral, conservante natural, entre outras, que os possibilitam ser aplicados em indústrias farmacêuticas, de cosméticos, perfumaria, aromaterapia e de alimentos (REZENDE *et al*., 2022; SOUZA *et al*., 2022; TEIXEIRA *et al*., 2023).

2.3 Contaminação e deterioração alimentar

Nos últimos anos, a segurança de alimentos vem recebendo destaque devido ao seu impacto substancial na saúde pública e no bem-estar. Diversas substâncias tóxicas, como contaminantes orgânicos ambientais, metais pesados, resíduos veterinários, micotoxinas, pesticidas e patógenos bacterianos possuem o potencial de serem incorporadas em produtos alimentícios durante as fases de cultivo de plantas, processamento, preservação e embalagem (LETSYO; MADILO; EFFAH-MANU, 2024; WU *et al*., 2021a).

O consumo de alimentos contaminados com microrganismos patogênicos representa um problema mundial, acarretando consequências adversas. Os microrganismos patogênicos e deterioradores não geram apenas modificações indesejáveis nos atributos físico-químicos, nutricionais e sensoriais dos alimentos, mas também representam uma séria ameaça à saúde humana (CARVALHO *et al*., 2023; ZHAO *et al*., 2023).

Além da contaminação microbiológica, a contaminação de alimentos por insetos vem gerando preocupação, pois eles podem atuar como vetores mecânicos ou biológicos de bactérias, gerando danos e riscos saúde além de grandes perdas econômicas. As pragas representam uma ameaça significativa para os agricultores de frutas e vegetais em escala global. Cerca de 18% a 26% dos danos que ocorrem na produção agrícola são causados por insetos, gerando prejuízos avaliados em mais de US$ 470 bilhões por ano, e esses prejuízos ocorrem na maioria das vezes antes da colheita (BUCK *et al*., 2024; RIVAS-NAVIA *et al*., 2023).

A oxidação lipídica é considerada umas das principais reações relacionadas com a degradação e perda de qualidade dos alimentos, influenciando nas propriedades de textura e na qualidade nutricional do produto alimentício. Os ácidos graxos insaturados presentes nos alimentos se decompõem em compostos que produzem gosto e odores desagradáveis, tornando o alimento inaceitável pelo consumidor (ASLAM; SCHROËN, 2023).

2.3.1 Bactérias patogênicas

A contaminação de alimentos por bactérias patogênicas é uma das principais preocupações para a saúde humana. Essas bactérias representam uma ameaça significativa à saúde pública, exigindo medidas rigorosas de prevenção e controle, pois são responsáveis por uma variedade de doenças. Destacam-se as bactérias patogênicas *Listeria monocytogenes* e *Salmonella,* pois estão relacionadas com a contaminação dos alimentos após sua fabricação (WU *et al*., 2023)

Listeria monocytogenes é um bastonete Gram-positivo, anaeróbio facultativo, disperso em todo o meio ambiente, e pode ser encontrado no solo, na água e em diversos alimentos. Esse patógeno pode causar listeriose, uma doença fatal em indivíduos imunocomprometidos, como crianças, idosos e pacientes com doenças crônicas. Para adultos saudáveis, os sintomas são semelhantes aos da gripe, ao passo que para mulheres grávidas, a listeriose pode resultar em aborto. Entre as 30 espécies do gênero Listeria validamente publicadas, apenas a *Listeria monocytogenes* é considerada patógena para os seres humanos; no entanto, casos raros causados por *Listeria ivanovii* já foram publicados (OBERREUTER; DYK; RAU, 2023; SHABANI *et al*., 2023).

Esse patógeno de origem alimentar possui capacidade de resistir e se multiplicar em uma ampla gama de condições diversas, tais como temperaturas que variam de -1,5 ºC a 45 ºC, pH entre 3,3 a 9,5 e altas concentrações de sal (NaCl) (20% p/v). Para outros microrganismos patogênicos diferentes da *Listeria monocytogenes*, tais como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Vibrio* spp., esses ambientes são considerados letais. Dessa forma, essa bactéria representa um risco para a indústria de alimentos, pois possui a capacidade de sobreviver a um amplo espectro de condições ambientais adversas, como citado anteriormente. (BYUN *et al*., 2023; OBERREUTER; DYK; RAU, 2023).

A contaminação por *Listeria monocytogenes* é uma das principais fontes de “recalls” de alimentos, e essa bactéria é considerada como um dos 10 principais agentes causadores de doenças transmitidas por alimentos. Outra preocupação é com a capacidade da *Listeria monocytogenes* em formar biofilmes, o que possibilita sua permanência em superfícies,

podendo resultar na contaminação dos produtos alimentícios (CARLIN *et al*., 2024; CARVALHO *et al*., 2023).

Salmonella é uma bactéria Gram-negativa, anaeróbia facultativa e possui natureza móvel devido à presença de flagelos. É considerada um patógeno de origem alimentar, capaz de provocar febre tifoide, gastroenterite, septicemia, aborto espontâneo e até morte em humanos e animais. *Salmonella* pode sobreviver em diferentes ambientes, e causar infecções devido ao consumo de alimentos e água contaminados por *Salmonella* por meio da via fecal-oral. Essa bactéria pode sobreviver por muitas semanas em condições secas e por alguns meses em ambiente úmido (CHANG *et al*., 2019; FUJITA; CHAVASIRI; KUBO, 2015; KAAVYA *et al*., 2021; LIN *et al*., 2023; YAN *et al*., 2022).

Na indústria de alimentos, a presença de *Salmonella* é considerada um desafio. Cepas resistentes durante o processamento de alimentos podem resultar em obstáculos significativos, pois podem permanecer em ambientes de manipulação de alimentos por um período prolongado, chegando a persistir por cerca de 10 anos (KAAVYA *et al*., 2021).

As fontes alimentares de *Salmonella* incluem ovos crus ou mal cozidos, leite cru, carnes cruas e seus derivados e aves. *Salmonella* pode causar a salmonelose, uma das principais doenças de origem alimentar, considerada um perigo global para a saúde pública. A salmonelose pode ocorrer após a ingestão de células viáveis de um organismo do gênero *Salmonella*. Nos Estados Unidos, Salmonella causa cerca de 450 mortes todo ano e 1,2 milhão de doenças, enquanto na China, essa bactéria é responsável por causar de 70% a 90% dos incidentes de intoxicação alimentar bacteriana (CHANG *et al*., 2019; FUJITA; CHAVASIRI; KUBO, 2015; LIN *et al*., 2023; YAN *et al*., 2022).

Existem muitos sorovares de *Salmonella*, e todos são considerados patogênicos para humanos. As respostas imunológicas e os sintomas dos hospedeiros estão associados aos sorovares (CHANG *et al*., 2019; FUJITA; CHAVASIRI; KUBO, 2015). Quando comparadas com outros sorovares de *Salmonella*, como *Typhimurium,* infecções humanas casadas por *Salmonella choleraesuis* apresentam taxas mais altas de hospitalização e mortalidade. Deve-se destacar que as infecções causadas por *Salmonella choleraesuis* são difíceis de tratar devido à resistência a diferentes antibióticos, e isso gera grande preocupação (GUO *et al*., 2016; LIN *et al*., 2023).

2.3.2 *Drosophila suzukii*

Drosophila suzukii (Diptera: Drosophilidae) é uma praga em espécies cultivadas e silvestres de frutas vermelhas, como morango e framboesa, presente atualmente em todos os continentes. A infestação de frutos por essa praga resulta em prejuízos substanciais, que variam com a cultura hospedeira e os níveis de infestação da praga. Originária do leste asiático, essa espécie foi inicialmente identificada no Brasil durante o verão de 2012/2013, na Região Sul do país. Os machos se distinguem das fêmeas por possuírem a presença de uma mancha escura próxima à borda de cada asa, uma característica que resulta no nome popular de "mosca-de-asa-pintada" (BAENA *et al*., 2023; SOUZA *et al*., 2022).

As fêmeas de *D. suzukii* possuem um ovopositor serrilhado e isso permite a ovoposição em frutos imaturos e com epiderme intacta, sendo o local de ovoposição considerado um caminho para os patógenos. As larvas se alimentam da polpa do fruto, tornando-o não comercializável. As perdas na produção de morango devido a *D. suzukii* são calculadas em cerca de 20% nos Estados Unidos e 30% no Brasil (BAENA *et al*., 2023; BUCK *et al*., 2024; SOUZA *et al*., 2022).

O manejo dessa praga é realizado principalmente utilizando inseticidas sintéticos, o que vem sendo intensificado, e isso tem gerado grande preocupação devido aos efeitos colaterais indesejáveis, como danos ecológicos e riscos à saúde pública. Dessa forma, alternativas eficazes e seguras para combater essa praga vem sendo estudadas (NARCISO *et al*., 2023; PINEDA *et al*., 2023).

No entanto, pesquisas mostram que *Drosophila suzukii* possui sensibilidade reduzida aos inseticidas espinosade, zeta-cipermetrina e bifentrina, indicando resistência potencial. Outra preocupação está relacionada com o fato de os inseticidas sintéticos serem prejudiciais não somente ao inseto alvo, mas também outros organismos não alvos e seu custo relativamente elevado. Assim, são necessários estudos com produtos alternativos, mais sustentáveis, capazes de inibir essa praga, sem afetar outros organismos não alvos, de forma que possibilitem aumentar o rendimento das colheitas e minimizar os impactos ambientais e aos consumidores (BUCK *et al*., 2024; SOUZA *et al*., 2022).

2.3.3 Oxidação lipídica

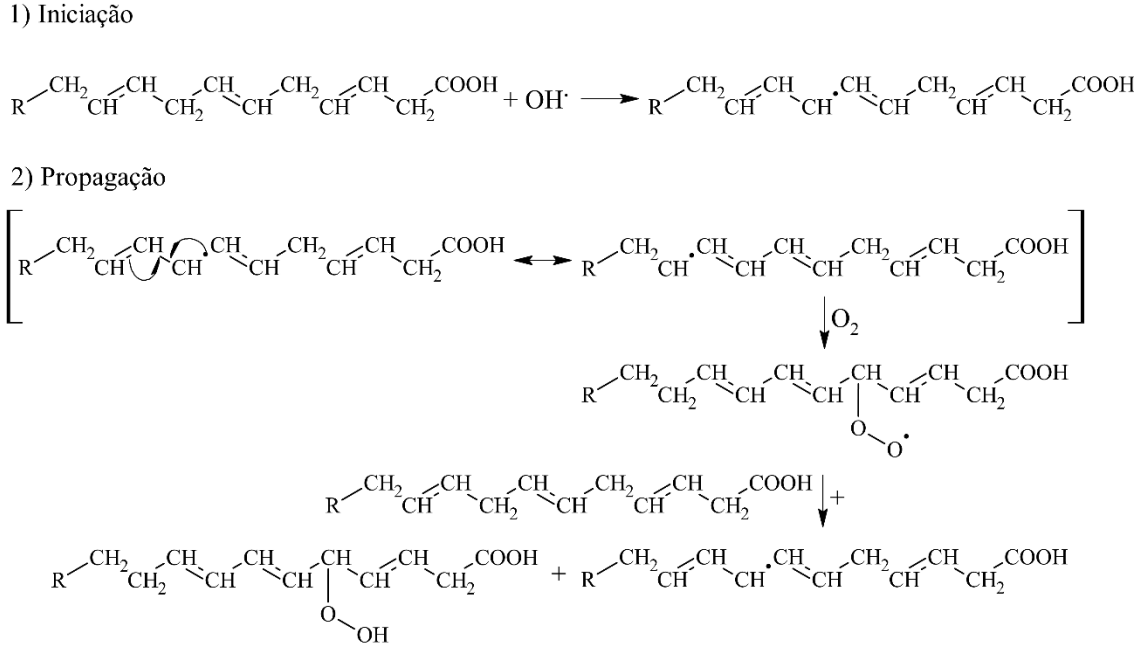
A oxidação lipídica é uma das principais causas da redução de vida útil dos produtos alimentícios, ocorrendo com frequência em alimentos que possuem alto teor de ácidos graxos poli-insaturados, gerando a perda de qualidade. Essa oxidação é caracterizada por reações em cadeia, em que ocorre a interação de radicais livres derivados do oxigênio com esses ácidos graxos poli-insaturados (CUSTODIO-MENDOZA *et al*., 2020).

Os radicais livres são intermediários de reações altamente reativos, que contêm elétrons desemparelhados, formados durante as reações de oxidação e redução. Esses radicais podem ser classificados em dois grupos, dependendo do átomo em que o elétron estiver centrado, podendo ser: espécies reativas de nitrogênio e espécies reativas de oxigênio. Nos alimentos, a presença de radicais livres está relacionada diretamente com a oxidação lipídica (BALASUBRAMANI *et al*., 2018, CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2018).

A oxidação lipídica nos alimentos pode ocorrer por meio da ação enzimática, pela ação das lipoxigenases, e por meio de reações não enzimáticas como autoxidação e fotoxidação. A lipoxigenase é uma enzima presente tanto em animais quanto em vegetais, capaz de catalisar a oxidação de ácidos graxos insaturados, como ácido linoleico, ácido linolênico e ácido araquidônico, para formar seus peróxidos correspondentes. Essa reação ocorre durante o armazenamento e processamento dos alimentos (ARAÚJO, 2015; LEHTONEN *et al*., 2020; MELO FILHO; VASCONCELOS, 2011).

A autoxidação lipídica ocorre na presença do oxigênio atmosférico e em três etapas. Na primeira etapa (iniciação), os radicais livres atacam o hidrogênio alílico, formando um novo radical. Na segunda etapa (propagação), esse radical formado na etapa de iniciação reage com o oxigênio e são obtidos como produtos dessa reação os radicais peroxil. Esses radicais peroxil reagem com outros lipídeos e formam o hidroperóxido lipídico e dienos conjugados, que são produtos primários da oxidação dos ácidos graxos. Na terceira etapa (finalização) ocorrem reações entre dois radicais, formando um composto não radicalar e um oxigênio, sendo encerrada a oxidação. Além de produtos primários, são obtidos os produtos secundários por meio da quebra do hidroperóxido lipídico, produzindo malondialdeído, pentanal, hexanal, dentre outros, como apresentado na Figura 11 (CUSTODIO-MENDOZA *et al*., 2020; MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2017).

Figura 11 – Etapas da oxidação lipídica.



Fonte: Adaptado de Ferreira (2018).

A fotoxidação é um processo oxidativo dos ácidos graxos insaturados resultante da exposição à luz, oxigênio e fotossensores. Nos produtos cárneos, a mioglobina é o fotossensor, e na presença de luz e oxigênio, ocorre o início do processo de transferência de energia para a reação de formação do peróxido. Diferentemente da autoxidação, a fotoxidação é independente da pressão do oxigênio, não apresenta período de indução e o oxigênio age direto na dupla ligação, sem formar radical livre, havendo a formação de radicais lipídicos e hidroperóxidos, sendo que os hidroperóxidos se decompõem e formam o hexanal (ARAÚJO, 2015; LEHTONEN *et al*., 2020; MELO FILHO; VASCONCELOS, 2011).

A oxidação lipídica é um dos principais fatores relacionados com a deterioração, gerando perda nutricional, de textura, cor e sensorial, fazendo com que o alimento perca a qualidade. Isso ocorre porque à medida que os níveis de oxidação aumentam, o teor de ranço aumenta, tornando esse produto inaceitável pelos consumidores. Além do ranço, durante a oxidação, moléculas tóxicas podem ser formadas, podendo gerar riscos à saúde humana. Com

o intuito de prevenir e reduzir a oxidação lipídica, são utilizados os antioxidantes nos alimentos (DEV *et al*., 2020; LAKSHMI *et al*., 2020; PATEIRO *et al*., 2018; SAMMET *et al*., 2006; WU *et al*., 2021b).

Antioxidante é qualquer substância que possua a propriedade de retardar, impedir ou reverter o dano oxidativo a uma molécula-alvo. Porém, se essa substância possuir naturalmente propriedades antioxidantes, sem eliminar outras propriedades biológicas, é denominada de antioxidante natural (REYES-FERMÍN *et al*., 2020). Essas definições de antioxidante se enquadram tanto para a eliminação de radicais livres presentes no corpo humano, quanto os usados como aditivos em alimentos (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2018).

Tanto os antioxidantes sintéticos quanto os naturais possuem a capacidade de impossibilitar a formação de radicais livres, sequestrar os radicais livres presentes em um meio, neutralizando-os e favorecendo no reparo e na reconstituição de estruturas biológicas lesadas (CAROCHO; MORALES; FERREIRA, 2018).

A indústria alimentícia emprega os antioxidantes sintéticos BHA (hidroxianisol butilado e BHT (hidroxitolueno butilado) como aditivos alimentares, pelo fato de serem capazes de eliminar radicais livres, reduzir a oxidação lipídica e impedir a degradação microbiana nos alimentos (AKBARI *et al*., 2019) Esses antioxidantes sintéticos não são utilizados nos produtos cárneos, mas são utilizados em diversas categorias de alimentos, como óleos de peixe e/ou outras gorduras de origem animal, incluindo óleos de alga e óleos e gorduras vegetais, por exemplo (BRASIL, 2022).

Também são utilizados os antioxidantes naturais na indústria de alimentos, como o ácido ascórbico, conhecido como vitamina C e o ácido eritórbico. biomolécula hidrossolúvel com propriedades antioxidantes e é considerada um nutriente dietético essencial. Dado que o organismo humano não é capaz de sintetizá-la por si só, sua obtenção por meio de frutas, vegetais e outras fontes alimentares é fundamental para diversas funções fisiológicas, incluindo a síntese de colágeno, cicatrização, desintoxicação corporal e absorção de ferro. O ácido eritórbico, estereoisômero do ácido ascórbico, também desempenha um papel significativo no corpo humano. Tanto o ácido ascórbico quanto o ácido eritórbico possuem papel significativo na indústria de alimentos. Esses são amplamente utilizados como suplementos, aditivos, conservantes e antioxidantes em alimentos processados (HELAL *et al*., 2018; YOUNIS *et al*., 2024).

Além desses antioxidantes citados anteriormente, destacam-se os óleos essenciais, que são antioxidantes naturais produzidos pelas plantas. A atividade antioxidante dos óleos essenciais está relacionada com a presença de compostos fenólicos, que possuem a capacidade

de doar um elétron para o radical livre, como o peroxil e o alcoxil, por meio da doação do hidrogênio presente nos grupos hidroxilas (-OH). Assim, ocorrem a estabilização e a inativação, impedindo a oxidação de outros compostos. Dessa forma, são obtidas com essas reações, novos radicais, que são incapazes de capturar átomos de hidrogênio dos lipídeos insaturados. Esses radicais podem reagir com radicais semelhantes ou radicais lipídicos, obtendo espécies não radicalares, inativando os radicais peroxil. Dessa forma, os compostos fenólicos possuem a capacidade de inibir a etapa de iniciação da oxidação lipídica, prevenindo a deterioração desses lipídeos e, consequentemente evitar a perda de qualidade dos alimentos em que estão presentes (PATEIRO *et al*., 2018; ROSA *et al*., 2020; TEIXEIRA *et al*., 2023).

2.4 Salame

Os salames são produtos embutidos, curados e fermentados, que possuem ampla gama de variações e são conhecidos e apreciados pelas características sensoriais, sendo consumidos em diferentes cenários culinários nos diferentes países do mundo (BIS-SOUZA; PENNA; BARRETTO, 2020; JOVANOVICHS *et al*., 2023). Pela Legislação Brasileira (Brasil, 2000), salame é produto cárneo obtido de carne suína e de toucinho, com adição ou não de carne bovina ou de outros ingredientes, condimentado, embutido em envoltórios naturais ou artificiais, curado, fermentado, maturado, defumado ou não, e dessecado. A Instrução Normativa nº 22/2000, do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) designa oito tipos de salames: Salaminho, Salame tipo Alemão, Salame tipo Calabrês, Salame tipo Friolano, Salame tipo Napolitano, Salame tipo Hamburguês, Salame tipo Italiano e Salame tipo Milano. As diferenças entre esses salames estão no tipo e na quantidade de matéria-prima, granulometria da carne e do toucinho e na presença de condimentos.

Os ingredientes normalmente utilizados no preparo dos salames são carne suína ou bovina, gordura, culturas para fermentação, sais, agentes de cura (nitrito e/ou nitrato), açúcar e especiarias (NISSEN *et al*., 2023; ZHANG; LU; CHEN, 2023). As etapas de produção do salame são os seguintes: separação dos e moagem da carne; mistura da carne com os ingredientes e embutimento da massa cárnea em tripas permeáveis ao vapor d'água. Após o embutimento, o produto é levado para a câmara de maturação, onde ocorre a fermentação e secagem por um período de aproximadamente 30 dias, sendo esse tempo variável de acordo com o tipo de salame. Durante o processo de fermentação, são empregadas bactérias lácticas para assegurar a segurança e estabilidade do produto e também cultura de *Staphylococcus coagulase* negativa, que contribui para estabilizar a cor, prevenir a rancificação e realçar os

compostos aromáticos dos produtos cárneos. Após a fermentação, ainda na câmara de maturação, realiza-se a secagem para conferir e intensificar os sabores, aroma e textura, reduzir a atividade de água e o pH, e melhorar a estabilidade microbiológica (BIS-SOUZA; PENNA; BARRETTO, 2020; KIM *et al*., 2021; PÉREZ-BURILLO *et al*., 2019).

A etapa de secagem é considerada uma etapa importante porque influencia nas características físicas, químicas, microbiológicas e nos parâmetros de qualidade dos produtos finais. Esses parâmetros são perda de massa (água), uniformidade do tempero, transformações químicas, físicas e microbiológicas. A perda de água é um parâmetro importante a ser observado, uma vez que é responsável pela redução da atividade de água, que influencia diretamente no crescimento de diversos microrganismos deteriorantes e patogênicos de origem alimentar, limitando o crescimento desses microrganismos (ALAMPRESE; FONGARO; CASIRAGHI, 2016).

Ainda nessa etapa de secagem, a umidade relativa é mantida constante e abaixo da atividade de água dos salames, com o intuito de gerar diferença na pressão de vapor, de forma que resulte na retirada de umidade pelas camadas externas dos salames. O recomendado é que a redução da umidade ocorra uniformemente para evitar o endurecimento do salame, que é um ponto negativo quanto à questão sensorial de textura. Outro ponto a ser levado em consideração é que se a perda de água do salame não ocorrer de forma adequada, a perda de peso ou firmeza desejada será obtida em maior tempo, de forma a prolongar o processo, resultando em maior custo de produção (ALAMPRESE; FONGARO; CASIRAGHI, 2016).

Após essa etapa de secagem, realiza-se o revestimento externo com parafina para melhorar a aparência, proporcionar maior durabilidade e integridade do alimento. Assim, o salame é submerso em tanque contendo parafina aquecida a 80 °C. Em seguida, é suspenso por 10 minutos para que escorra o excesso de parafina e então, é embalado a vácuo para poder ser comercializado à temperatura ambiente (RAMOS, 2005).

O processo de fabricação do salame é complexo, uma vez que muitos fatores externos influenciam nas características do produto final. Esses fatores são temperatura, umidade relativa, velocidade do ar nas salas de fermentação e maturação e tempo de maturação. Todos esses fatores determinam a queda do pH, atividade de água e, consequentemente, a cor, o sabor, o aroma e a textura (ALAMPRESE; FONGARO; CASIRAGHI, 2016).

De acordo com Pérez-Burillo *et al*. (2019), o salame é muito consumido mundialmente, apesar de possuir alto teor de gordura e falta de moléculas bioativas. Nos últimos anos, estudos foram realizados para melhoria da qualidade desses alimentos, por meio da adição de ingredientes funcionais, que geram a modificação da formulação; modificação da composição

da carne por meio da alimentação de gado e inovações no processamento e armazenamento desses produtos cárneos, tudo isso com o objetivo de melhorar as características sensoriais, nutricionais e funcionais, além de agregar ainda mais valor a esse produto (JOVANOVICHS *et al*., 2023; PÉREZ-BURILLO *et al*., 2019; SACCANI *et al*., 2023).

A vida útil dos salames é estável; no entanto, pode ser afetada pela oxidação lipídica. Essa oxidação lipídica pode prejudicar o valor nutritivo do produto, reduzindo o teor de ácidos graxos poli-insaturados e vitaminas, bem como formar aldeídos e cetonas responsáveis por sabores desagradáveis ou outros derivados de ácidos graxos poli-insaturados potencialmente tóxicos. Além disso, o processo de oxidação excessiva pode resultar em perda de cor e textura e encurta o prazo de validade, afetando a aceitação pelo consumidor (BOLLETTA *et al*., 2024; LIU *et al*., 2023; ROCCHETTI *et al*., 2023).

2.4.1 Salaminho

O salaminho é um produto cárneo elaborado de carne suína ou suína e bovina, toucinho, com granulometria média entre 6 e 9 mm, embutido em envoltórios naturais ou artificiais, adicionado de ingredientes, curado, defumado ou não fermentado, maturado e dessecado por tempo indicado pelo processo de fabricação (BRASIL, 2000). Esse produto cárneo deve ser constituído por um teor mínimo de 60% de carne suína, toucinho, sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio, como ingredientes obrigatórios. Alguns ingredientes opcionais podem ser utilizados, como carne bovina, leite em pó, açúcares, maltodextrinas e proteínas lácteas. Além disso, podem-se utilizar também aditivos intencionais, como vinho, condimentos, aromas e especiarias, substâncias glaceantes (revestimento externo) e coadjuvantes de tecnologia como cultivos iniciadores (*starters*). O salaminho é caracterizado por ser embutido em tripas com calibre de até 50 mm (BRASIL, 2000).

O sal, cloreto de sódio (NaCl), é utilizado no preparo dos produtos cárneos para conferir estabilidade microbiana, uma vez que possui a propriedade de reduzir a atividade de água dos produtos. O sal também confere sabor salgado e intensifica o sabor do alimento. Outra vantagem da utilização do sal é que ele ajuda na solubilização das proteínas miofibrilares, contribuindo para a melhoria da capacidade de retenção de água e capacidade emulsionante dos produtos nos quais é utilizado como ingrediente (YIM *et al*., 2020).

O nitrito, um sal de cura, possui função antimicrobiana, antioxidante, promove o desenvolvimento da cor e sabor característico de produto curado e age como conservante, prolongando a vida útil dos produtos cárneos curados (SACCANI *et al*., 2023). A ação

antimicrobiana do nitrito está relaciona com inibição de bactérias, principalmente do *Clostridium botulinum,* bactéria esporulada altamente resistente ao tratamento térmico. Além de evitar o crescimento e germinação dos esporos dessa bactéria em alimentos embalados à vácuo, os sais de nitrato são utilizados nos produtos cárneos como fonte de nitrito, por meio da ação de bactérias nitrato redutoras (FLORES; TOLDRÁ, 2021).

De acordo com JO *et al*. (2020), o nitrito (NO_2^-), adicionado aos produtos cárneos, é decomposto a óxido nítrico (NO), como mostrado nas Equações 1, 2 e 3.

$$NO_2^- + H^+ \leftrightarrow HNO_2 \quad (1)$$

$$2HNO_2 \leftrightarrow N_2O_3 + H_2O \quad (2)$$

$$N_2O_3 \leftrightarrow + NO + NO_2 \quad (3)$$

A adição de nitrito em meio ácido (H^+) produz a formação do ácido nitroso (HNO_2). O ácido nitroso decompõe-se gradativamente em trióxido de dinitrogênio (N_2O_3) e água (H_2O). Em seguida, o trióxido de dinitrogênio é convertido em óxido nítrico (NO) e dióxido de nitrogênio (NO_2). O óxido nítrico obtido a partir das reações com o nitrito é o composto responsável por proporcionar as características do nitrito em carnes curadas. Além disso, o óxido nítrico reage com a mioglobina (Fe^{2+}), metamioglobina (Fe^{3+}) e aminoácidos conferindo mudanças observadas na carne curada. A combinação de óxido nítrico com a mioglobina (Fe^{2+}) forma a nitroso mioglobina. A mioglobina também pode reagir com ácido nitroso e ser oxidada a metamioglobina (Fe^{3+}) que, quando reage com o óxido nítrico, forma o nitroso metamioglobina, que é rapidamente reduzida a nitroso mioglobina, resultando na coloração característica dos produtos cárneos curados crus, que é vermelho-rosado (FLORES; TOLDRÁ, 2021; JO *et al*., 2020; SACCANI *et al*., 2023).

O desenvolvimento da cor da carne curada é afetado pela presença de antioxidantes usados nesses produtos, como o ácido ascórbico, eritorbato e polifenóis, que promovem o aumento da taxa de geração do óxido nítrico por induzir a redução do trióxido de dinitrogênio (JO *et al*., 2020).

O açúcar também pode ser adicionado como ingrediente. É utilizado como substrato e metabolizado pelas cepas bacterianas em ácido lático durante a etapa de fermentação, o que gera a redução do pH do salaminho (VELASCO; WEISS; LOEFFLER, 2020).

2.5 Nanotecnologia

A nanotecnologia, surgida a partir de 1980, é definida como o estudo da manipulação de materiais como partículas, fibras e plaquetas que possuem tamanho variando entre 1-100 nm, faixa da nanoescala, que confere propriedades físicas, químicas e biológicas diferenciadas das outras macroescalas. Essa tecnologia é considerada nova e emergente e está sendo amplamente aplicada na agricultura, no processo de tratamento de água e em indústrias biomédicas, farmacêuticas, óticas, automotivas, eletrônicas e de alimentos (GENET; ERRABI; GAUTHIER, 2012; JILDEH; MATOUG, 2020; KUANG *et al*., 2020).

Na indústria de alimentos, o uso da nanotecnologia vem se intensificando nos últimos anos devido aos resultados promissores obtidos com sua aplicação. Isso está associado ao uso em diferentes áreas do setor alimentício, como no desenvolvimento de ingredientes na escala nanométrica, com o intuito de aumentar a retenção de cor, sabor, biodisponibilidade de nutrientes, no impedimento da deterioração microbiana e melhora da resistência dos materiais de embalagem, no desenvolvimento de embalagens ativas, inteligentes e biodegradáveis, em bionanosensores, para avaliar a qualidade dos produtos durante o transporte e armazenamento; no encapsulamento e revestimento de aditivos alimentares e na liberação controlada de compostos bioativos (BRANDÃO *et al*., 2023; CANDIDO *et al*., 2022; KUANG *et al*., 2020; KUMAR *et al*., 2020).

Além de proporcionar benefícios para a indústria, o emprego da nanotecnologia melhora a aceitação dos consumidores em relação aos alimentos em que é utilizada, principalmente por estar relacionada com a produção de alimentos funcionais, com alegação de saúde, por prolongar a vida útil e por produzir alimentos mais seguros. A aplicação da nanotecnologia na indústria de alimentos inclui a utilização de nanoemulsões, nanofibra e nanopartículas, por exemplo (BADAWY; LOTFY; SHAWIR, 2020; BRANDÃO *et al*., 2023; CANDIDO *et al*., 2022).

2.5.1 Nanoemulsões

Nanoemulsões são um tipo de emulsão, produzidas por meio das dispersões de dois líquidos imiscíveis, normalmente óleo e água, estabilizados por um surfactante, cineticamente estáveis e que possuem diâmetro de gota entre 1 e 100 nm. A aplicação prática de nanoemulsões

tem ocorrido principalmente nas indústrias de alimentos, farmacêutica e de cosméticos. (PANDEY *et al*., 2023a; PANWAR *et al*., 2024; ZHAO *et al*., 2023).

Na área de alimentos, as nanoemulsões podem ser utilizadas para transportar ingredientes como corantes, óleos essenciais, minerais, suplementos como ômega-3, prebióticos, agentes antioxidantes e antimicrobianos. Além disso, podem ser utilizadas para melhorar a vida útil, estabilidade, diminuir o teor de gordura, e ao mesmo tempo, aumentar o valor nutricional dos alimentos. Existem muitos estudos que comprovam as atividades antioxidante e antibacteriana *in vitro* dos óleos essenciais; no entanto, a aplicação desses óleos é limitada devido à baixa solubilidade em soluções aquosas, por serem bastante voláteis e instáveis a altas temperaturas. Quando incorporados diretamente aos alimentos, os óleos essenciais podem interagir com alguns componentes da matriz alimentar, como lipídios, proteínas e carboidratos e causar impactos negativos nas características sensoriais destes produtos (PANDEY *et al*., 2023a; PANDEY *et al*., 2023b; ZHAO *et al*., 2023).

Como alternativa para resolver esses problemas, as nanoemulsões vêm sendo cada vez mais estudadas. A incorporação de óleos essenciais em nanoemulsões pode melhorar a dispersão em soluções aquosas, aumentar a estabilidade físico-química, bioatividade, liberação sustentada, absorção e biosdisponibildiade (PANDEY *et al*., 2023a; ZHAO *et al*., 2023).

Abdalla *et al*. (2023) estudaram nanoemulsões de óleo essencial de limão incorporadas em revestimentos compostos de pectina e quitosana e observou-se que o óleo essencial de limão foi usado com sucesso no aumento da vida útil de morangos. Além disso, os revestimentos contendo óleo essencial de limão apresentaram boa atividade antioxidante e inibiram a contaminação fúngica do morango, quando comparados com o controle.

Mehraie *et al*. (2023) produziram nanoemulsões de óleo essencial de *Hyssopus officinalis* e incorporaram em revestimentos de quitosana, com o objetivo de aumentar a vida útil de camarões. Os autores relataram que o revestimento comestível contendo nanoemulsão à base de quitosana pode ser eficaz na preservação das características microbiológicas, químicas e sensoriais de frutos-do-mar, como camarão armazenado a 4 ºC por 12 dias, quando comparados com o controle.

2.5.1.1 Surfactantes

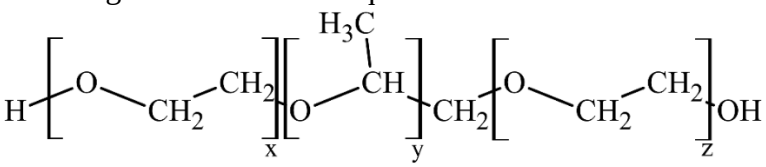
A formação das nanoemulsões ocorre por meio da combinação das fases oleosa e aquosa, utilizando moléculas de surfactantes anfifílicos. Esses surfactantes possuem a capacidade de estabilizar as interfaces no sistema heterogêneo das nanoemulsões, graças ao seu

grupo hidrofílico na fase aquosa e ao grupo hidrofóbico na fase oleosa. Isso gera a redução da tensão interfacial entre as fases oleosa e aquosa, facilitando a estabilização das gotículas (PANWAR *et al*., 2024; ZHANG *et al*., 2024).

A partir da dissociação das moléculas dos surfactantes em soluções aquosas, é possível classificá-los em duas categorias principais: surfactantes iônicos e não iônicos. Os surfactantes iônicos podem ser subdivididos, de acordo com sua carga, em três categorias distintas: surfactantes aniônicos, catiônicos e anfotéricos. Surfactantes aniônicos possuem carga negativa, surfactantes catiônicos têm carga positiva, e surfactantes anfotéricos apresentam tanto cargas positivas quanto negativas. Em contraste, surfactantes não iônicos não possuem carga elétrica. Entre os surfactantes, destacam-se: Pluronic F127 e Tween 80 (OUYANG *et al*., 2023).

O Pluronic F127, um surfactante polimérico não iônico, é um copolímero anfifílico. Esse surfactante também é muito utilizado na indústria de fármacos (Figura 12) (EL-LEITHY; IBRAHIM; SOROUR, 2015; MA *et al*., 2020;). Ganguly *et al*. (2022) desenvolveram uma pomada à base de óleo de cera de abelha e hidrogel de Pluronic F127, e os resultados mostraram eficácia na cicatrização de feridas em camundongos.

Figura 12 – Estrutura química do Pluroni F127.

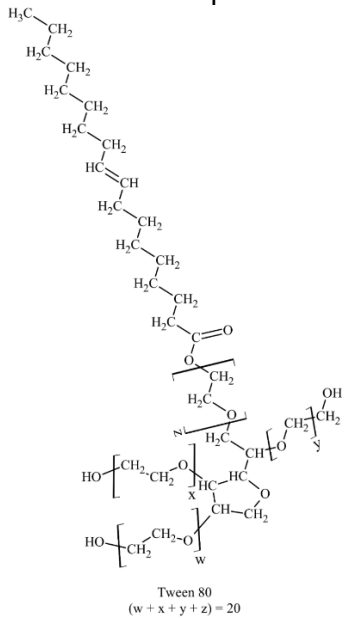


Pluronic F127
x, z = 100
y = 65

Fonte: Adaptado de Mohammad *et al*. (2020).

O Tween 80, conhecido também como polissorbato 80, é um surfactante não iônico da família dos polissorbatos, amplamente empregado em alimentos e diversos produtos. Sua principal função é atuar como emulsificante e solubilizante (Figura 13) (PANWAR *et al*., 2024). De acordo com Aboud *et al*. (2020), esse surfactante é muito utilizado na indústria de fármacos, pois possui a capacidade de aumentar a solubilidade aquosa de medicamentos hidrofóbicos por meio da formação de micelas, além de ser capaz de aumentar a permeação de diferentes medicamentos através das membranas biológicas

seguFigura 13 – Estrutura química do Tween 80.



Fonte: Adaptado de Mohammad *et al*. (2020).

2.5.1.2 Produção de nanoemulsões

As nanonoemulsõe podem ser produzidas por diferentes métodos; no entanto, dependendo da quantidade de energia usada no processo, os métodos podem ser classificados como de baixa e alta energia. Os métodos de fabricação das nanoemulsões influenciam no diâmetro das partículas, uma vez que afetam a composição, o funcionamento e estabilidade do sistema de nanoemulsões. A escolha do método de produção de nanoemulsões depende da composição da matriz a ser homogeneizada e das características físico-químicas e funcionais do produto final (PANWAR *et al*., 2024).

Nos métodos de alta energia, são utilizados dispositivos mecânicos de alta intensidade, como homogeneizadores de alta pressão, microfluidizadores e ultrassonicadores. A incorporação de energia altera as características das nanoemulsões e evita ruptura e coalescência das gotículas. Na produção de nanoemulsões por meio da homogeneização de alta pressão, é possível obter tamanhos de partículas com até 1 nm, utilizando homogeneizador de alta pressão ou homogeneizador de pistão. Nessa técnica, o sistema sofre forte turbulência e cisalhamento hidráulico, devendo-se tomar cuidado com a deterioração dos componentes do sistema de emulsão devido à geração de calor promovida durante o processo (PANWAR *et al*., 2024; SAFAYA; ROTLIWALA, 2020).

A microfludização é outro método que pode ser utilizado para a produção de nanoemulsões e possui o mesmo princípio da homogeneização de alta pressão, sendo utilizada uma bomba de alta pressão (30-120 MPa). Nesse método, a emulsão inicialmente formada é bombeada por meio de uma câmara de interação composta por dois canais de fluxo, dispostos de forma que os dois fluxos se afetem em altas velocidades. A quebra das gotículas é causada pelas altas forças de cisalhamento, e esse procedimento é repetido até que as dimensões necessárias sejam obtidas. No entanto, sabe-se que a desvantagem dessa técnica é a coalescência das gotículas formadas, devido ao tempo prolongado necessário para a emulsificação e ao aumento de temperatura nas nanoemulsões devido à elevada pressão utilizada (PANWAR *et al*., 2024).

O método de ultrassonicação é considerado um dos melhores para a produção de nanoemulsões em pequena escala, pois, em grade escala, as ondas possuem bom impacto apenas nas moléculas que se encontram nas proximidades. Essa técnica possui como princípio a agitação das moléculas criadas por ondas sonoras com frequência acima de 20 KHz. Uma sonda de ultrassom é inserida na pré-emulsão, preparada previamente com auxílio de um ultra-turrax, e durante o processo de sonicação, são criadas ondas longitudinais, criando assim regiões alternadas de compressão e expansão, que geram níveis de intensa turbulência mecânica. Essas ondas geram vibrações mecânicas e cavitação acústica, criando fortes ondas de choque, gerando, consequentemente alta pressão e turbulência, o que resulta na quebra das gotículas (PANWAR *et al*., 2024; SANTOS; RIBEIRO; SANTANA, 2019).

Diferentemente dos métodos de alta energia, as nanoemulsões produzidas pelos métodos de baixa energia são formadas espontaneamente devido à mudanças nas condições ambientais, como mudança de temperatura, ou na composição da mistura. A utilização da energia química armazenada no sistema de componentes causa a formação de gotículas de tamanho nanométrico apenas pela homogeneização suave dos componentes na interface óleo e água. Nos métodos de baixa energia, são utilizadas agitações com taxa mais lenta, aproximadamente 1600 RPM, levando a um menor consumo de energia. Algumas técnicas podem ser utilizadas para o preparo de nanoemulsões de baixa energia, como emulsificação espontânea, composição de inversão de fase, temperatura de inversão de fase e diluição de microemulsão (PANWAR *et al*., 2024; SAFAYA; ROTLIWALA, 2020; ZHANG *et al*., 2024a).

A emulsificação espontânea é o método de baixa energia mais simples de preparação de nanoemulsões, pois as fases aquosa, oleosas e o surfactante anfifílico, que não está em equilíbrio, entram em contato, misturando lentamente uma fase na outra. Devido à agitação suave do sistema, o surfactante passa da fase oleosa para a fase aquosa, resultando em um

aumento da área interfacial e turbulência, formando pequenas gotículas. Essa técnica de formação de nanoemulsões é considerada altamente eficiente e barata; no entanto, sua aplicação é restrita devido à algumas limitações, como tipos de óleos específicos de baixa viscosidade, óleos à base de hidrocarbonetos e a necessidade de grandes volumes de surfactantes (PANWAR *et al*., 2024).

No processo de produção de nanoemulsões por meio do método de composição de inversão de fase, a produção ocorre à temperatura ambiente. Nesse procedimento, um agitador magnético em escala laboratorial é empregado para agitar o óleo e o surfactante, enquanto a água é adicionada de maneira controlada, gota a gota. A nanoemulsão se forma devido à interação entre a tensão interfacial, viscosidade aparente, região de transição de fase, estrutura e concentração do surfactante. Este método é também conhecido como inversão catastrófica, pois implica no aumento da fração volumétrica da fase dispersa (SAFAYA; ROTLIWALA, 2020).

No método temperatura de transição de fase, os componentes do sistema surfactante, óleo e água são agitados e aquecidos gradualmente à temperatura ambiente continuamente até a temperatura de inversão de fase. Em seguida, a solução é rapidamente resfriada, transferindo a mistura para um banho de gelo, levando à formação de nanoemulsões de óleo/água. Quando a temperatura de transição de fase do sistema se encontra entre 20-65 ºC, superior à temperatura de armazenamento, as nanoemulsões formadas são do tipo óleo em água. Quando a temperatura de transição de fase do sistema se encontra entre 10-40 ºC, inferior à temperatura de armazenamento, nanoemulsões do tipo água em óleo são formadas (SAFAYA; ROTLIWALA, 2020).

Para o método de diluição de microemulsão, também conhecido como método de autoemulsificação, a nanoemulsão é preparada por meio de um processo de diluição mantendo a temperatura constante. A microemulsão de óleo em água é ligeiramente diluída com uma quantidade significativa de água, resultando na redução da concentração do surfactante, que desempenha o papel crucial na preservação da estabilidade termodinâmica, não havendo variação de temperatura e não sendo necessário altas taxas de agitação (SAFAYA; ROTLIWALA, 2020).

2.6 Embalagens ativas

As embalagens ativas são aquelas nas quais substâncias com propriedades antioxidantes, antimicrobianas ou absorventes são incorporadas ao material da embalagem. Essas substâncias

ativas podem interagir com o alimento ou com a atmosfera ao redor dele, preservando sua qualidade e segurança, e prolongando, consequentemente, sua vida útil. (VICARIO *et al*., 2024; WRONA *et al*., 2023).

Nas embalagens em que os compostos ativos são antioxidantes, a prevenção da oxidação lipídica pode ocorrer por meio do sequestro de radicais livres. Esses compostos ativos têm a capacidade de reagir e estabilizar os radicais livres, impedindo a oxidação primária dos lipídeos e, consequentemente, outras reações em cadeia da oxidação. As embalagens ativas antimicrobianas são capazes de diminuir, retardar ou até mesmo interromper o crescimento microbiano, seja interagindo diretamente com o alimento embalado ou com o espaço de cabeça da embalagem de forma indireta. Devido à sua capacidade de controlar microrganismos patogênicos e deteriorantes, as embalagens antimicrobianas asseguram a segurança do consumidor, ao mesmo tempo em que estendem a vida útil dos alimentos. Existem diversas formas de embalagens ativas, como sachês ou almofadas contendo compostos ativos voláteis, filmes poliméricos com a incorporação desses compostos e revestimento ou adsorção desses compostos ativos na superfície do polímero (WRONA *et al*., 2023).

O uso indiscriminado dos materiais de embalagem sintéticas de origem não renovável representam uma ameaça ambiental. Diante desse desafio, diversos estudos estão sendo realizados com o objetivo de desenvolver filmes biodegradáveis como alternativas mais sustentáveis (HAN; SONG, 2021; VICARIO *et al*., 2024).

Dessa forma, os filmes poliméricos biodegradáveis para embalagens de alimentos vêm se destacando, pois são considerados biomateriais não tóxicos, ecológicos e renováveis. A incorporação de substâncias com atividades biológicas nesses filmes gera embalagens funcionais com bioatividades e propriedades mecânicas melhoradas. Os filmes funcionais podem ser fabricados utilizando diversos polímeros, como quitosana, metilcelulose, amido, gelatina e pectina (NASTASI; FITZGERALD; KONTOGIORGOS, 2023; NI *et al*., 2024).

2.6.1 Pectina

Na indústria de alimentos, a pectina é considerada funcional e pode ser empregada como agente gelificante, estabilizante e espessante em bebidas, geleias, iogurtes, bebidas lácteas e sorvetes. A pectina pode ser classificada com base no grau de esterificação, sendo pectina com alto teor de metoxil (grau de esterificação > 50%) e baixo teor de metoxil (grau de esterificação < 50%). O grau de esterificação influencia na viscosidade, nas propriedades de gelificação e capacidade de formação de filme da pectina. Os resíduos de frutas cítricas e de maçã são a

principal fonte de pectina no mercado. As características químicas da pectina variam de acordo com a fonte vegetal em que é extraída e as condições do processo de extração (ROHASMIZAH; AZIZAH, 2022; REN *et al*., 2022; ZHANG *et al*., 2024b).

A pectina tem sido muito estudada devido à sua propriedade de formação de filmes e revestimentos para embalagens de alimentos, sendo considerada uma alternativa ao uso de plásticos, pois possui como característica ser extraída de resíduos, ser biodegradável, não tóxica, ser comestível e possuir baixo custo (NASTASI; FITZGERALD; KONTOGIORGOS, 2023; ZHANG *et al*., 2024b).

A pectina é um heteropolissacarídeo encontrado comumente na natureza como um componente estrutural nas paredes celulares das plantas. Estruturalmente, a pectina é composta por quatro principais polímeros pectídicos: homogalacturonan, ramnogalacturonan I, ramnogalacturonan II e xilogalacturonan. O homogalacturonan é caracterizado por ser um homopolímero de região linear ou lisa, onde os resíduos de ácido D-galacturônico estão ligados em α-(1–4). O ramnogalacturonan I está localizado na área altamente ramificada contendo muitas cadeias laterais de (1,2)-α-L-ramnose-(1,4)α-D-ácido galacturônico. O ramnogalacturonan II possui uma estrutura de ácido galacturônico com um considerável número de cadeias laterais, incluindo (1,2)-α-L-ramnose, fucose, ácido glucurônico e ácido glucurônico metil esterificado, bem como outros carboidratos raros. A região xilogalacturonan é caracterizada pela presença de resíduos de xilose ligados por ligações covalentes β-1,4. A pectina possui muitos grupos carboxila carregados negativamente, e isso facilita a interação com cátions metálicos ou moléculas ativas com grupos catiônicos (BAGHI *et al*., 2023; BUTLER *et al*., 2023; CONDEZO-HOYOS *et al*., 2023; PIACENZA *et al*., 2022; ROHASMIZAH; AZIZAH, 2022;).

Com o passar dos anos, a população vem se preocupando em reduzir o desperdício de recursos finitos e diminuir o efeito das embalagens sintéticas no meio ambiente. Dessa forma, alternativas plásticas biodegradáveis produzidas a partir de biopolímeros atende aos desafios enfrentados pela sociedade, que são gestão de resíduos agrícolas, redução de resíduos plásticos e proteção da saúde ambiental.

2.6.2 Filmes de pectina

O método de *casting* é amplamente empregado para a produção de filmes de pectina, principalmente em escala laboratorial, sendo a principal vantagem desse método a facilidade da produção de filmes. A primeira etapa desse método é a solubilização do biopolímero em um

solvente apropriado. Aditivos como plastificantes ou reticulantes podem ser usados para melhorar a propriedade do filme e promover a formação de redes. A segunda etapa é caracterizada pela transferência da mistura obtida em moldes que seja possível a delaminação, remoção do filme. Na terceira etapa, ocorre a formação do filme, devido à total evaporação do solvente. Na quarta etapa, é realizada remoção do filme do molde após a secagem, seguido pelo posterior armazenamento (BUTLER *et al*., 2023; CHANG *et al*., 2023; ROY *et al*., 2023).

Os filmes à base de pectina possuem como característica boa propriedade de barreira a gases, devido às suas estruturas de rede organizadas, que dificultam a permeação. Entretanto, é importante notar que esses filmes são altamente hidrofílicos, o que restringe suas aplicações práticas em embalagens para produtos alimentares com elevado teor de umidade (SUN; WEI; XUE, 2023).

Os filmes à base de pectina vêm sendo estudados, principalmente aqueles incorporados com diferentes substâncias ativas naturais, como óleos essenciais e extratos, com a finalidade de conferir atividades antimicrobianas e antioxidantes aos filmes. Diferentes bionanocompósitos já foram produzidos, possuindo como base a pectina e nanomateriais, como nanoemulsões de óleo fixo, nanoemulsões de óleos essenciais, nanopartículas de prata, entre outros (ALMASI; AZIZI; AMJADI, 2020; HAN; SONG, 2021; YUN; LIU, 2022).

A produção de filmes ativos à base de pectina tem sido estudada devido à capacidade de transportar biomoléculas com atividades biológicas. Almasi, Azizi e Amjadi (2020) estudaram filmes de pectina incorporados de nanoemulsão de óleo essencial de manjerona. Os resultados mostraram que os filmes apresentaram boa propriedade de barreira à água e atividade antibacteriana sobre as bactérias Gram-positiva (*Staphylococcus. aureus)* e Gram-negativa (*Escherichia coli*).

Candido *et al*. (2022) desenvolveram filmes de pectina incorporados com nanoemulsão de óleo de pracaxi como embalagem ativa para aumentar a vida útil de manteiga. Os autores observaram que as embalagens contendo nanoemulsão melhoraram a estabilidade das amostras de manteiga sobre o processo oxidativo, mostrando ser uma boa alternativa para aumentar a vida útil de alimentos.

Ao investigarem os impactos do óleo essencial de tomilho nas propriedades antioxidantes e antibacterianas de filmes de pectinas, Qin *et al*. (2024) observaram que a incorporação desse óleo essencial melhorou a atividade antioxidante dos filmes, quando comparados com o controle, que aumentou com o aumento da concentração de óleo essencial. Os autores também obtiveram como resultados que os filmes enriquecidos com óleo essencial apresentaram efeito inibitório sobre *Staphylococcus. aureus* e *Escherichia coli.*

Filmes ativos compostos por pectina de casca de maçã, amido de batata, nanopartícula de dióxido de zircônio e óleo essencial de *Zataria multiflora* foram utilizados em carne de codorna, por Sani *et al*. (2021). Os filmes ativos contendo óleo essencial de *Zataria multiflora* e nanopartícula de dióxido de zircônio aumentaram as propriedades antibacterianas dos filmes. As carnes de codorna embaladas com os filmes-controle apresentaram contagem microbiana maior do que a dos filmes ativos. Os autores também observaram aumento nos valores de pH e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, sendo esses valores maiores para as amostras controle. Dessa forma, os filmes contendo óleo essencial de *Zataria multiflora* e dióxido de zircônio apresentaram efeito significativo no aumento da vida útil da carne de codorna.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, G. *et al*. Eco-sustainable coatings based on chitosan, pectin, and lemon essential oil nanoemulsion and their effect on strawberry preservation. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 249, p. 126016, 2023

ABOUD, H. M. *et al*. Preparation and appraisal of self-assembled valsartan-loaded amalgamated Pluronic F127/Tween 80 polymeric micelles: Boosted cardioprotection via regulation of Mhrt/Nrf2 and Trx1 pathways in cisplatin-induced cardiotoxicity. **Journal of drug targeting**, v.28, n. 3, p. 282-299, 2020.

AHMED, A. F. *et al*. Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. **Food Science and Human Wellness**, v. 8, n. 3, p. 299-305, 2019a.

AKBARI, S. *et al*. Extraction, characterization and antioxidant activity of fenugreek (*Trigonella-Foenum Graecum*) seed oil. **Materials Science for Energy Technologies**, v. 2, n. 2, p. 349-355, 2019.

ALAMPRESE, C.; FONGARO, L.; CASIRAGHI, E. Effect of fresh pork meat conditioning on quality characteristics of salami. **Meat Science**, v. 119, p. 193-198, 2016.

ALKUWAYTI, M. A. *et al*. Foliar application of Moringa oleifera leaves extract altered stress-responsive gene expression and enhanced bioactive compounds composition in *Ocimum basilicum*. **South African Journal of Botany**, v. 129, p. 291-298, 2020.

ALMASI, H.; AZIZI, S.; AMJADI, S. Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and pickering emulsion stabilized marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil. **Food Hydrocolloids**, v. 99, p. 105338, 2020.

ARAÚJO, Júlio Maria de Andrade. **Química de alimentos: teoria e prática**. UFV Impr. Universitária, 2015.

ARPANAHI, A. A. *et al*. Arbuscular mycorrhizal fungi inoculation improve essential oil and physiological parameters and nutritional values of *Thymus daenensis* Celak and *Thymus vulgaris* L. under normal and drought stress conditions. **European Journal of Soil Biology**, v. 100, p. 103217, 2020.

ASLAM, A.; SCHROËN, K. Lipid oxidation in food emulsions; a review dedicated to the role of the interfacial area. **Current Opinion in Food Science**, v. 51, p. 101009, 2023.

BABAEI-GHAGHELESTANY, A. *et al*. Targeted delivery of essential oils of *Salvia officinalis* L to AGS cancer cells using PLA-spermine-PEG-FA. **Results in Engineering,** v. 20, p. 101553, 2023.

BADAWY, M. E. I.; LOTFY, T. M. R.; SHAWIR, S. M. S. Facile synthesis and characterizations of antibacterial and antioxidant of chitosan monoterpene nanoparticles and their applications in preserving minced meat. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 156, p. 127-136, 2020.

BAENA, R. *et al*. Cold chain storage for quality maintenance of strawberry fruits attacked by *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae). **Postharvest Biology and Technology**, v. 197, p. 112188, 2023.

BAGHI, F. *et al*. Nanoemulsion-based multilayer films for ground beef preservation: antimicrobial activity and physicochemical properties. **Molecules**, v. 28, n. 11, p. 4274, 2023.

BAHCESULAR, B. *et al*. Seed priming with melatonin effects on growth, essential oil compounds and antioxidant activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) under salinity stress. **Industrial Crops and Products**, v. 146, p. 112165, 2020.

BALASUBRAMANI, S. *et al*. Formulation of nanoemulsion from leaves essential oil of *Ocimum basilicum* L. and its antibacterial, antioxidant and larvicidal activities (*Culex quinquefasciatus*). **Microbial Pathogenesis**, v. 125, p. 475-485, 2018.

BIS-SOUZA, C. V.; PENNA, A. L. B.; BARRETTO, A. C. S. Applicability of potentially probiotic *Lactobacillus casei* in low-fat Italian type salami with added fructooligosaccharides: in vitro screening and technological evaluation. **Meat Science**, v. 168, p. 108186, 2020.

BISTGANI, Z. E. *et al*. Effect of salinity stress on the physiological characteristics, phenolic compounds and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. and *Thymus daenensis* Celak. **Industrial Crops and Products**, v. 135, p. 311-3202019.

BOLLETTA, V. *et al*. Feeding pigs with hazelnut skin and addition of a concentrated phenolic extract from olive-milling wastewaters during pork processing: Effects on salami quality traits and acceptance by the consumers. **Meat Science**, v. 213, p. 109479, 2024.

BRANDÃO, R. M. *et al*. In vitro and in vivo efficacy of poly (lactic acid) nanofiber packaging containing essential oils from *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum gratissimum* L. against *Aspergillus carbonarius* and *Aspergillus niger* in table grapes. **Food Chemistry**, v. 400. p. 134087, 2023.

BRASIL. **Instrução Normativa n° 22, 31 julho de 2000**. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Jerked Beef, de Presunto tipo Parma, de Presunto Cru, de Salame, de Salaminho, de Salame tipo Alemão, de Salame tipo Calabres, de Salame tipo Friolano, de Salame tipo Napolitano, de Salame tipo Hamburgues, de Salame tipo Italiano, de Salame tipo Milano, de Linguiça Colonial e Pepperoni. Sec. 1, p. 15-28, 2000.

BRASIL. **Resolução da Diretoria Colegiada n° 740, 9 de agosto de 2022**. Autoriza o uso de aditivos alimentares e coadjuvantes de tecnologia em diversas categorias de alimentos. 2022.

BUCK, N. *et al*. Insect excluding mesh enhances spotted-wing Drosophila (*Drosophila suzukii*) control in tunneled raspberry with limited effects on natural enemy abundance. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 359, p. 108756, 2024.

BUTLER, I. P. *et al*. Pectin as a biopolymer source for packaging films using a circular economy approach: Origins, extraction, structure and films properties. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 40, p. 101224,2023.

BYUN, K. *et al*. Control of *Listeria monocytogenes* in food industry by a combination treatment of natural aromatic compound with *Listeria*-specific bacteriophage cocktail. **Food Research International**, p. 113859, 2023.

CANDIDO, G. S. *et al*. Bionanocomposites of pectin and pracaxi oil nanoemulsion as active packaging for butter. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 32, p. 100862, 2022.

CARLIN, C. R. *et al*. An alternative rapid confirmation method for identifying *Listeria monocytogenes* from a variety of 125 g food samples within two days of a PCR presumptive positive. **Journal of Food Protection**, v. 87, n. 1, p. 100193, 2024.

CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 107-120, 2018.

CARVALHO, F. *et al*. *Melissa officinalis* essential oil as an antimicrobial agent against *Listeria monocytogenes* in watermelon juice. **Food Microbiology**, v. 109, p. 104105, 2023.

CHANG, S. *et al*. Probiotic-loaded edible films made from proteins, polysaccharides, and prebiotics as a quality factor for minimally processed fruits and vegetables: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 253, p. 127226, 2023.

CHANG, Y. F. *et al*. Differences in immune responses of pigs vaccinated with Salmonella Typhimurium and S. Choleraesuis strains and challenged with S. Choleraesuis. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 65, p. 41-47, 2019.

CONDEZO-HOYOS, L. *et al*. Structural, chemical and technofunctional properties pectin modification by green and novel intermediate frequency ultrasound procedure. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.1, p. 106743, 2023.

CUI, H. *et al*. Inhibition mechanism of cardamom essential oil on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilm. **LWT - Food Science and Technology**, v. 122, p. 109057, 2020.

CUSTODIO-MENDOZA, J. A. *et al*. Determination of malondialdehyde, acrolein and four other products of lipid peroxidation in edible oils by gas-diffusion microextraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1627, p. 461397, 2020.

DEV, K. *et al*. Dietary synbiotic supplementation improves the growth performance, body antioxidant pool, serum biochemistry, meat quality, and lipid oxidative stability in broiler chickens. **Animal Nutrition**, v. 6, n. 3, p. 325-332, 2020.

DEWICK, Paul M. **Medicinal Natural Products A Biosynthetic Approach**. 1. Ed. New York: John Wiley & Sons, 2009.

DIMA, C.; DIMA, S. Essential oils in foods: extraction, stabilization, and toxicity. **Current Opinion in Food Science**, v. 5, p. 29-35, 2015.

EL-LEITHY, E. S.; IBRAHIM, H. K.; SOROUR, R. M. In vitro and in vivo evaluation of indomethacin nanoemulsion as a transdermal delivery system. **Drug Delivery,** v. 22, n. 8, p. 1010-1017, 2015.

FALLEH, H. *et al*. Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. **Food Chemistry**, v. 330, p. 127268, 2020.

FERREIRA, Vanuzia Rodrigues Fernandes. **Avaliação colorimétrica, eletroanalítica e Teórica da atividade antioxidante de óleos essenciais e seus constituintes majoritários.** Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

FLORES, M.; TOLDRÁ, F. Chemistry, safety, and regulatory considerations in the use of nitrite and nitrate from natural origin in meat products - Invited review. **Meat Science**, v. 171, p. 108272, 2021.

FUJITA, K. I.; CHAVASIRI, W.; KUBO, I. Anti-*Salmonella* activity of volatile compounds of Vietnam coriander. **Phytotherapy Research**, v. 29, n. 7, p. 1081-1087, 2015.

GANGULY, R. *et al*. Structural, rheological and therapeutic properties of pluronic F127 hydrogel and beeswax based lavender oil ointment formulations. **Journal of Molecular Liquids**, v. 365, p. 120157, 2022.

GENET, C.; ERRABI, K.; GAUTHIER, C. Which model of technology transfer for nanotechnology? A comparison with biotech and microelectronics. **Technovation**, v. 32, p. 205-215, 2012.

GOLKAR, P.; MOSAVA, N.; JALALI, S. A. H. Essential oils, chemical constituents, antioxidant, antibacterial and in vitro cytotoxic activity of different *Thymus* species and *Zataria* multiflora collected from Iran. **South African Journal of Botany**, v. 130, p. 250-258, 2020.

GUO, X. *et al*. Preparation and properties of films loaded with cellulose nanocrystals stabilized *Thymus vulgaris* essential oil pickering emulsion based on modified tapioca starch/polyvinyl alcohol. **Food Chemistry**, v. 435, p. 137597, 2024.

GUO, Y. *et al*. *Salmonella* enterica serovar Choleraesuis on fresh-cut cucumber slices after reduction treatments. **Food Control**, v. 70, p. 20-25, 2016.

HAN, H. S.; SONG, K. B. Antioxidant properties of watermelon (*Citrullus lanatus*) rind pectin films containing kiwifruit (*Actinidia chinensis*) peel extract and their application as chicken thigh packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 28, p. 100636, 2021.

HELAL, A. A. *et al*. Performance of erythorbic acid as an oxygen scavenger in thermally aged lean MEG. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 170, p. 911-921, 2018.

HONORATO, A.C. *et al*. Colored shade nets and different harvest times alter the growth, antioxidant status, and quantitative attributes of glandular trichomes and essential oil of *Thymus vulgaris* L. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 35, p. 100474, 2023.

HOSSEINI, F. *et al*. Encapsulation of rosemary essential oil in zein by electrospinning technique. **Journal of Food Science**, v. 86, n. 9, p. 4070-4086, 2021.

JILDEH, N. B.; MATOUQ, M. Nanotechnology in packing materials for food and drug stuff opportunities. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 5, p. 104338, 2020.

JO, K. *et al*. Nitrite sources for cured meat products. **LWT - Food Science and Technology**, v. 129, p. 109583, 2020.

JOVANOVICHS, M. R. C. *et al*. Replacing animal fat with gels of psyllium fiber and combined linseed oil–psyllium fiber in salamis: Impacts on technological, nutritional, oxidative, and sensory properties. **Foods**, v. 12, n. 13. p. 2439. 2023.

KAAVYA, R. *et al*. Emerging non-thermal technologies for decontamination of *Salmonella* in food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 112, p. 400-418, 2021.

KHIYA, Z. *et al*. Valorization of the *Salvia officinalis* L. of the Morocco bioactive extracts: Phytochemistry, antioxidant activity and corrosion inhibition. **Journal of King Saud University - Science**, v. 31, n. 3, p. 322-335, 2019.

KHOSHSOKHAN, F. *et al*. Analysis of The Essential Oils of *Thymus Kotschyanus* L. (10 populations) from Iran. **Cercetari Agronomice in Moldova**, v. 47, p. 49-59, 2014.

KIM, J. Objective measurements associated with the preferred eating qualities of fermented salamis. **Foods**, v. 10, n. 9, p. 2003, 2021.

KUANG, L. *et al*. Sensory acceptability and willingness to buy foods presented as having benefits achieved through the use of nanotechnology. **Food Quality and Preference**, v. 83, p. 103922, 2020.

KUMAR, P. *et al*. Nanotechnology and its challenges in the food sector: A review. **Materials Today Chemistry**, v. 17, p. 100332, 2020.

LAKSHMI, S. P. *et al*. Epigallocatechin gallate diminishes cigarette smoke-induced oxidative stress, lipid peroxidation, and inflammation in human bronchial epithelial cells. **Life Sciences**, v. 259, p. 118260, 2020.

LEHTONEN, M. *et al*. Active food packaging through controlled in situ production and release of hexanal. **Food chemistry: X**, v. 5, p. 100074, 2020.

LETSYO, E.; MADILO, F. K.; EFFAH-MANU, L. Pyrrolizidine alkaloid contamination of food in Africa: A review of current trends and implications. **Heliyon**, v. 10, n. 1, p. e24055, 2024.

LIN, Y *et al*. Biological and genomic characterization of a polyvalent bacteriophage (S19cd) strongly inhibiting *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis. **Veterinary Microbiology**, v. 284, p. 109822, 2023.

LIU, Y. *et al*. Antioxidant effect of yeast on lipid oxidation in salami sausage. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1113848, 2023.

MA, M. Synthesis of small-sized SAPO-34 assisted by pluronic F127 nonionic surfactant and its catalytic performance for methanol to olefins (MTO). **Catalysis Communications**, v. 133, p. 105839, 2020.

MAHAJAN, M.; KUIRY, R.; PAL, P. K. Understanding the consequence of environmental stress for accumulation of secondary metabolites in medicinal and aromatic plants. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 18, p. 100255, 2020.

MARIUTTI, L. R. B.; BRAGAGNOLO, N. Influence of salt on lipid oxidation in meat and seafood products: A review. **Food Research International**, v. 94, p. 90-100, 2017.

MEHRAIE, A. *et al*. New coating containing chitosan and *Hyssopus officinalis* essential oil (emulsion and nanoemulsion) to protect shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against chemical, microbial and sensory changes. **Food Chemistry: X**, v. 19, p. 100801, 2023.

MELO FILHO, Artur Bibiano; VASCONCELOS, Margarida Angélica Silva. **Química dos alimentos**. Recife: UFRPE, 2011.

MENDES, F. S. F. *et al*. Antibacterial activity of *salvia officinalis* L. against periodontopathogens: An in vitro study. **Anaerobe**, v. 63, p. 102194, 2020.

MOHAMMAD, Y. *et al*. Steric stabilisers govern the colloidal and chemical stability but not in vitro cellular toxicity of linoleoylethanolamide cubosomes. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 192, p. 111063, 2020

MORSY, N. F. S. Production of thymol rich extracts from ajwain (*Carum copticum* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) using supercritical CO_2. **Industrial Crops and Products**, v. 145, p. 112072, 2020.

NABISSI, M. *et al*. Thyme extract increases mucociliary-beating frequency in primary cell lines from chronic obstructive pulmonary disease patients. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 105, p. 1248-1253, 2018.

NAKAMURA, Y. *et al*. Targeted enzyme gene re-positioning: A computational approach for discovering alternative bacterial enzymes for the synthesis of plant-specific secondary metabolites. **Metabolic Engineering Communications**, v. 9, p. e00102, 2019.

NARCISO, R. *et al*. *Drosophila suzukii* displays a sex-dependent immune response to *Microbacterium thalassium* and *Providencia* sp. infection. **Biological Control**, v.181, p. 105204, 2023

NASTASI, J. R.; FITZGERALD, M. A.; KONTOGIORGOS, V. Tuning the mechanical properties of pectin films with polyphenol-rich plant extracts. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 253, p. 127536, 2023.

NI, C. Ambient plasma treatment of pectin in aqueous solution to produce a polymer used in packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 256, p. 128511, 2024.

NISSEN, L. *et al*. Effects of the replacement of nitrates/nitrites in salami by plant extracts on colon microbiota. **Food Bioscience**, v. 53, p. 102568, 2023.

NUTRIZIO, M. *et al*. Valorization of sage extracts (*Salvia officinalis* L.) obtained by high voltage electrical discharges: Process control and antioxidant properties. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 60, p. 102284, 2020.

OBERREUTER, H.; DYK, M.; RAU, J. Validated differentiation of *Listeria monocytogenes* serogroups by FTIR spectroscopy using an artificial neural network based classifier in an accredited official food control laboratory. **Clinical Spectroscopy**, v. 5, p. 100030, 2023.

OUYANG, D. *et al*. Experimental study on the synergistic dust reduction of MNBs and surfactants. **Process Safety and Environmental Protection**, p. 1-20, 2023

PANDEY, V. K. *et al*. Bioactive properties of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil nanoemulsion: A comprehensive review. **Heliyon**, v. 10, p. e22437, 2023. a

PANDEY, V. K. *et al*. Effects of clove essential oil (*Caryophyllus aromaticus* L.) nanoemulsion incorporated edible coating on shelf-life of fresh cut apple pieces. **Journal of Agriculture and Food Research**, v.14, p. 100791. 2023. b

PANWAR, A. *et al*. Nanoemulsion based edible coatings for quality retention of fruits and vegetables-decoding the basics and advancements in last decade. **Environmental Research**, v. 240, p. 117450, 2024.

PATEIRO, M. *et al*. Essential oils as natural additives to prevent oxidation reactions in meat and meat products: A review. **Food Research International**, v. 113, p. 156-166, 2018.

PÉREZ-BURILLO, S. *et al*. Potential probiotic salami with dietary fiber modulates antioxidant capacity, short chain fatty acid production and gut microbiota community structure. **LWT - Food Science and Technology**, v. 105, p. 355-362, 2019.

PIACENZA, E. *et al*. Cross-linked natural integropectin films from citrus biowaste with intrinsic antimicrobial activity. **Cellulose**, v. 29, n. 10, p. 779-5802, 2022.

PINEDA, M. *et al*. Low concentrations of eucalyptus essential oil induce age, sex, and mating status-dependent stimulatory responses in *Drosophila suzukii*. **Agriculture**, v. 13, n. 2, p. 404, 2023.

QIN, C. *et al*. Preparation, physicochemical properties, antioxidant, and antibacterial activities of quaternized hawthorn pectin films incorporated with thyme essential oil. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 41, p. 101235, 2024.

RAMOS, Eduardo Mendes. **Tecnologia de processamento de carnes e derivados.** Vitória da Conquista, 2005.

REN, W. *et al*. Recyclable and biodegradable pectin-based film with high mechanical strength. **Food Hydrocolloids**, v. 129, p. 107643, 2022.

REYES-FERMÍN, L. M. *et al*. Natural antioxidants' effects on endoplasmic reticulum stress-related diseases. **Food and Chemical Toxicology**, v. 138, p. 111229, 2020.

REZENDE, D. A. D. C. S.*et al*. Bactericidal and antioxidant effects of essential oils from Satureja montana L., *Myristica fragrans* H. and *Cymbopogon flexuosus*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 74, n. 5, p. 741-751. 2022.

RIVAS-NAVIA, D. M. *et al*. Bioactive compounds of insects for food use: Potentialities and risks. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 14, p. 100807, 2023.

ROCCHETTI, G. *et al*. Impact of axenic and mixed starter cultures on metabolomic and sensory profiles of ripened Italian salami. **Food Chemistry**, v. 402, p. 134182, 2023

ROHASMIZAH, H.; AZIZAH, M. Pectin-based edible coatings and nanoemulsion for the preservation of fruits and vegetables: A review. **Applied Food Research**, v.2, p. 100221, 2022.

ROSA, C. G. *et al*. 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.

ROY, S. *et al*. Recent progress in pectin extraction, characterization, and pectin-based films for active food packaging applications: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 239, p. 124248, 2023.

SACCANI, G. *et al*. Evaluation of the antioxidant effect of a phytocomplex addition in clean label pork salami enriched in n-3 PUFA. **Food Chemistry**, v. 399, p. 133963, 2023.

SAFAYA, M.; ROTLIWALA, Y. C. Nanoemulsions: A review on low energy formulation methods, characterization, applications and optimization technique. **Materials Today: Proceedings**, v. *27*, p. 454-459, 2020.

SALEHI, B. *et al*. Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses. **Phytotherapy Research**, v. 32, p. 1688-1706, 2018.

SAMMET, K. *et al*. Assessment of the antioxidative potential of dietary supplementation with α-tocopherol in low-nitrite salami-type sausages. **Meat Science**, v. 72, n. 2, p. 270-279, 2006.

SANI, I. K. *et al*. Composite film based on potato starch/apple peel pectin/ZrO2 nanoparticles/microencapsulated Zataria multiflora essential oil; investigation of physicochemical properties and use in quail meat packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 117, p. 106719, 2021.

SANTOS, S. V.; RIBEIRO, A. P. B.; SANTANA, M. H. A. Solid lipid nanoparticles as carriers for lipophilic compounds for applications in foods. **Food Research International**, v. 122, p. 610-626, 2019.

SEYEDI, F. S.; NAFCHI, M. G.; REEZI, S. Effects of light spectra on morphological characteristics, primary and specialized metabolites of *Thymus vulgaris* L. **Heliyon**. v. 10, n. 1. p. e23032, 2024.

SHABANI, M. *et al*. Effect of *Urtica dioica* L. essential oil (forms of free and nanoliposome) on some inoculated pathogens (*Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*) in minced camel meat. **Food Chemistry: X**, v. 20, p. 101050, 2023.

SHMEIT, Y. H. *et al*. Autopolyploidy effect on morphological variation and essential oil content in *Thymus vulgaris* L. **Scientia Horticulturae**, v. 263, p. 109095, 15 mar. 2020.

SIMÕES, Claudia Maria Oliveira *et al*. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

ŠOJIĆ, B. *et al*. The effect of essential oil and extract from sage (*Salvia officinalis* L.) herbal dust (food industry by-product) on the oxidative and microbiological stability of fresh pork sausages. **LWT - Food Science and Technology**, v. 89, p. 749-755, 2018.

SOUZA, L. *et al*. Toxicity, histopathological alterations and acetylcholinesterase inhibition of *Illicium verum* essential oil in *Drosophila suzukii*. **Agriculture**, v. 12, n. 10, p. 1667, 2022.

SUN, J., WEI, Z., XUE, C. Preparation and characterization of multifunctional films based on pectin and carboxymethyl chitosan: Forming microchambers for high-moisture fruit preservation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 37, p. 101073, 2023.

TEIXEIRA, M. L. *et al*. Evaluation of the antioxidant activity of the essential oils from *Cantinoa carpinifolia* (Benth.) and *Lippia origanoides* (Kunth.) by various methods. **Journal of Essential Oil Research**, v. 35, n. 2, p. 143-153. 2023.

TEIXEIRA, Maria Luisa. **Óleos essenciais de *Cantinoa carpinifolia* (Benth.) e *Lippia origanoides* Kunth.: composição química, atividade antioxidante e potencial farmacológico**. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2016.

THAKUR, M. *et al*. Improving production of plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 12, p. 1-12, 2019.

TOHIDI, B. *et al*. Thymol, carvacrol, and antioxidant accumulation in Thymus species in response to different light spectra emitted by light-emitting diodes. **Food Chemistry**, v. 307, p. 125521, 2020.

TOHIDI, B.; RAHIMMALEK, M.; TRINDADE, H. Review on essential oil, extracts composition, molecular and phytochemical properties of Thymus species in Iran. **Industrial Crops and Products**, v. 134, p. 89-99, 2019.

VELASCO, L.; WEISS, J.; LOEFFLER, M. Influence of microbial in-situ heteropolysaccharide production on textural properties of raw fermented sausages (salami). **Journal of Food Science and Technology**, v. 58, p. 562-570, 2020.

VICARIO, A. L. *et al*. Assessing the impact of chañar and green tea extracts on pectin active packaging for extended food preservation. **Food Hydrocolloids**, v. 153, p. 110009, 2024.

WEI, Z. F. *et al*. Dual-cooled solvent-free microwave extraction of *Salvia officinalis* L. essential oil and evaluation of its antimicrobial activity. **Industrial Crops and Products**, v. 120, p. 71-76, 2018.

WRONA, M. New active packaging based on encapsulated carvacrol, with emphasis on its odour masking strategies. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 40, p. 101177, 2023.

WU, G. *et al*. Nanomaterials-based fluorescent assays for pathogenic bacteria in food-related matrices. **Trends in Food Science & Technology**, v. 142, p. 104214, 2023.

WU, H. *et al*. Impact of lipid composition and muscle microstructure on myoglobin-mediated lipid oxidation in washed cod and pig muscle. **Food Chemistry**, v. 336, p. 127729, 2021. b

WU, K. J. *et al*. Application of metal–organic framework for the adsorption and detection of food contamination. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 143, p. 116384, 2021. a

YAMANI, H. A.; ALI, W. M. Medicinal plant (*Ocimum basilicum*) based enhancement of honey bioactivity. **South African Journal of Botany**, v. 163, p. 427-432. 2023.

YAN, S. *et al*. Genomic virulence genes profile analysis of *Salmonella enterica* isolates from animal and human in China from 2004 to 2019. **Microbial Pathogenesis**, v. 173, p. 105808, 2022.

YIM, D. G. *et al*. Effect of sodium-alternative curing salts on physicochemical properties during salami manufacture. **Food Science of Animal Resources**, v. 40, n. 6, p. 946-956, 2020.

YOUNIS, S. *et al*. An effective sensing platform composed of polyindole based ternary nanocomposites for electrochemical detection of ascorbic acid. **Materials Chemistry and Physics**, v. 316, p.129113, 2024.

YUN, D; LIU, J. Recent advances on the development of food packaging films based on citrus processing wastes: A review. **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 9, p. 100316, 2022.

ZHANG, M. *et al*. Functional nanoemulsions: Controllable low-energy nanoemulsification and advanced biomedical application. **Chinese Chemical Letters,** v. 35, n. 2, p. 108710, 2024. a

ZHANG, X. *et al*. Edible films of pectin extracted from dragon fruit peel: Effects of boiling water treatment on pectin and film properties. **Food Hydrocolloids**, v. 147, p. 109324, 2024. b

ZHANG, Y.; LU, Y.; CHEN, F. Relationship between physicochemical properties and microbial structural distribution of Chinese-style and salami fermented sausages. **Food Bioscience**, v. 53, p. 102583, 2023.

ZHAO, D. *et al*. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil nanoemulsion against *Pseudomonas deceptionensis* CM2. **Heliyon**, v. 9, p. e19582, 2023.

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1 - The antibacterial, antioxidant and insecticidal activities of essential oils from *Thymus vulgaris* L., *Salvia officinalis* L., and *Ocimum basilicum* L.

Artigo escrito de acordo com as normas do periódico Journal of Food Science.
Classificação: A3 para Ciência dos Alimentos.
JCR: 3.9

Cassia Duarte Oliveira[1], Maria das Graças Cardoso[2*], Luis Roberto Batista[1], Eduardo Alves[3], Maria Beatriz Pereira Rosa[1], Vanuzia Rodrigues Fernandes Ferreira[2], Luciano de Souza[2], Maria Pineda[4], Antonia Isadora Fernandes[2], David Lee Nelson[5], Khalid Haddi[4]

[1]Department Food Science, Federal University of Lavras, Lavras 37200-000, MG, Brazil.

[2]Department of Chemistry, Federal University of Lavras, Lavras 37200-000, MG, Brazil.

[3]Department of Plant Pathology, Federal University of Lavras, Lavras 37200-000, MG, Brazil.

[4]Department of Entomology, Federal University of Lavras, Lavras 37200-000, MG, Brazil.

[5]Postgraduate Program in Biofuels, Federal University of The Jequitinhonha and Mucuri Valleys, Diamantina, MG, Brazil.

[*]Corresponding author: mcardoso@ufla.br; Full postal address: 3037

Biological activities of essential oils

ABSTRACT

The essential oils from *Thymus vulgaris, Salvia officinalis,* and *Ocimum basilicum* were extracted by hydrodistillation, characterized by gas chromatography/mass spectrometry, and quantified by gas chromatography/flame ionization detector. The principal constituents were thymol, *ρ*-cymene and carvacrol (*T. vulgaris*); camphor, β-pinene, and 1,8-cineole (*S. officinalis*); and (*E*)-anethole, linalool, and 1,8-cineole (*O. basilicum*). The essential oil from *T. vulgaris* was the most effective, forming inhibition halos of 46.16 ± 0.16 and 26.38 ± 0.33 mm, respectively, for *Salmonella choleraesuis* and *Listeria monocytogenes*. This essential oil was also more effective against *S. choleraesuis*, with a minimum inhibitory concentration of 8.85 mg mL^{-1}, and a MIC of 17.71 mg mL^{-1} for *L. monocytogenes*. No bactericidal activity against *S. choleraesuis* and *L. monocytogenes* was observed for the essential oils from *S. officinalis*, and *O. basilicum*. Scanning electron micrographs showed that the addition of essential oils left the bacterial cells damaged and deformed. Significant DPPH free radical scavenging capacity and lipid substrate protection were observed in the β-carotene bleaching assay for the essential oil from *T. vulgaris*, with IC_{50} of 231.13 ± 0.53 and 15.25 ± 0.38 μg mL^{-1}, respectively. A dose-dependent relationship between antioxidant activity and concentrations was observed in the tests. Toxicities of LC_{50}=1.24, 3.51 and 1.19 mg mL^{-1} against *Drosophila suzukii* flies, respectively, were observed for the essential oils from *T. vulgaris, S. officinalis* and *O. basilicum*. Results suggest that essential oils can be promising antioxidants agents, insecticides, and inhibitors of pathogenic bacteria.

Keywords: Secondary metabolites, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella choleraesuis*; DPPH; β-carotene; *Drosophila suzukii*.

Practical Application:

The chemical composition of essential oils is related to biological properties. The results of this study offer valuable information about the essential oils from *T. vulgaris*, *S. officinalis* and *O. basilicum*, showing that they have the potential for the development of promising antioxidant agents, insecticides, and inhibitors of pathogenic bacteria, and can be used to extend the shelf life of food.

1. INTRODUCTION

Bacterial infections can result from the consumption of food contaminated by pathogenic bacteria, such as *Listeria monocytogenes* and *Salmonella spp*, which can cause morbidity and mortality. Antibiotics are widely used to treat bacterial infections; however, because of their indiscriminate use, some bacteria have become resistant to these drugs (Ricci et al., 2022; Indrotristanto et al., 2023)

In addition to the presence of microorganisms in food, the existence of free radicals can also influence the quality of these products. Free radicals are reactive species responsible for triggering undesirable reactions. In food, these free radicals can be controlled by synthetic antioxidants (butylhydroxyanisole (BHA), 2,6-di-*tert*-butyl-4-hydroxytoluene (BHT), *tert*-butylhydroquinone (TBHQ) and propyl gallate (GP)) that are able to neutralize them through the donation of hydrogen atoms or electrons, thereby delaying chain reactions and inhibiting the attack of free radicals on lipids and proteins (Teixeira et al., 2023; Orlo et al., 2023).

Other factors, such as insect attacks, are responsible for generating economic losses for food industry. Among these insect pests, *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) flies are known to attack several red fruit crops. Using a serrated ovipositor, the females of this phytophagous pest lay their eggs in healthy ripe fruits, cause wounds and make the fruits susceptible to secondary infections by other insects, fungi and bacteria, thus making the fruits unsuitable for commercialization (De Souza et al., 2022; Pineda et al., 2023). The control of insects such as *D. suzukii* is generally accomplished by the application of synthetic insecticides. Therefore, the search for alternative methods, mainly natural ones, is of great interest (Finetti et al., 2020; Pineda et al., 2023).

As an alternative to the use of synthetic products, essential oils have been extensively studied because they have proven biological properties (De Souza et al., 2022; Rezende et al., 2022). Taking into account the fact that the bioeffects of essential oils can vary according to their chemical composition, the present study sought to investigate the biological activities of essential oils extracted from three food condiments: *Thymus vulgaris* L., *Salvia officinalis* L., and *Ocimum basilicum* L., popularly known as thyme, sage, and basil, respectively, purchased in bulk. Our questions were the following: i) Do essential oils have bactericidal and bacteriostatic effects against pathogenic bacteria such as *Salmonella choleraesuis* and *Listeria monocytogenes*? ii) Do essential oils have antioxidant activities observable through different methods? iii) Do essential oils have

insecticidal activities against *Drosophila suzukii*? iv) Are these natural products as effective as some of the commercially available synthetic antibiotics, antioxidants and insecticides? The answers to these questions are extremely important for understanding the effectiveness of essential oils, compare them with commercial products and contribute to the use of more sustainable, ecologically correct and safe products.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Extraction of essential oils

Dried leaves of *T. vulgaris, S. officinalis* and *O. basilicum* were obtained from the Central Market of Belo Horizonte, MG, Brazil. The essential oils were extracted by the hydrodistillation method over a period of two hours using the modified Clevenger apparatus (Brasil, 2010). The hydrolate was centrifuged for 15 minutes (Fanem Baby I model 206 BL, São Paulo, Brazil) at 965.36*g,* and the essential oils were separated in amber glass containers and stored under refrigeration at 4 °C. The yield of essential oils was determined according to the method described by Pimentel et al. (2006), and is expressed as the percentage of dry weight relative to the weight of the plant material (% w/w DWB).

2.2. Identification and quantification of constituents present in essential oils

To identify the constituents present in essential oils, a gas chromatograph (Shimadzu Corporation, model QP2010 Plus, Kyoto, Japan) coupled to a mass spectrometer (GC-MS) and equipped with a capillary column of fused silica (30 m x 0.25 mm) with a DB5 bonded phase (0.25 µm thick) was used (Adams, 2017). Helium was the carrier gas (White Martins, Rio de Janeiro, Brazil) at a flow rate of 1.0 mL min^{-1}, and the injector and detector temperatures were 220 °C and 240 °C, respectively. The initial column temperature was 60 °C. The temperature increased at a rate of 3 °C min^{-1} to 240 °C, followed by an increase at 10 °C min^{-1} to 300 °C, where it remained constant for 7 minutes. A 0.5-µL aliquot of the sample dissolved in hexane (1:100) (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, USA) was injected. The MS was operated using the following parameters: 70 eV ionization potential, ion source temperature of 200 °C, scan speed of 1000 Da s^{-1}, and scan interval of 0.50 fragments s^{-1}. Analyses were performed in full scan mode, ranging from 45 to 500 Da. Data on chemical constituents of the essential oils were obtained from the LabSolutions LC/GC Workstation 2.72. For identification of the components, the retention indices were calculated using the equation of Van den Dool and

Kratz (1963) and the standards of the homologous series of n-alkanes (nC8-nC18). The retention indicies were compared with those existing in the literature (Adams, 2017). The FFNSC 1.2, NIST 107 and NIST 21 mass spectral libraries were also employed to compare the spectral data of the constituents of the essential oils with similarities greater than 95%. The quantification of essential oil constituents was performed by gas chromatography using a flame ionization detector (FID) (Shimadzu GC-2010, Kyoto, Japan). The operating conditions were the same as those used in the qualitative analysis, except for the detector temperature (300 °C). The percentages of essential oil constituents were calculated using the area normalization method.

2.3. Evaluation of the antibacterial activity of essential oils

2.3.1 Bacterial strains

Standard strains of *L. monocytogenes* (ATCC 19117) and *S. choleraesuis* (ATCC6539) were obtained from the Microorganism Culture Collection of the Mycotoxins and Food Mycology Laboratory of the Federal University of Lavras, Lavras, MG, Brazil. *Salmonella choleraesui*s strains were reactivated in Brain Heart Infusion Broth (BHI, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, India), and *L. monocytogenes* strains (ATCC 19117) were reactivated in Brain Heart Infusion Broth (BHI, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, India) enriched with 0.6% yeast extract (Merck, Germany) at 37 °C for 24 hours. *Salmonella choleraesuis* strains were seeded on the surface of Petri dishes containing Mueller Hinton Agar (KASVI, Pinhals, PR, Brazil), whereas *L. monocytogenes* strains were seeded on Brain Heart Infusion Agar (BHI, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai, India). After the incubation period of 24 hours at 37 °C, the bacterial cells were suspended in saline solution (0.9% NaCl w/v). Bacterial inocula were standardized to turbidity equal to that of a 0.5 McFarland standard solution, resulting in a culture solution of 10^8 CFU mL^{-1}. The turbidity was adjusted to a range of 0.08 to 0.1 Å by measuring the absorbance at 625 nm in a UV/Vis spectrophotometer (Shimadzu UV-160 1 PC) (CLSI, 2015).

2.3.2. Agar disk diffusion method

The antimicrobial activities of the essential oils from *T. vulgaris, S. officinalis* and *O. basilicum* were evaluated by the disk diffusion method (CLSI, 2019). Initially, 100 µL of standardized inoculum (10^8 CFU mL^{-1}) was distributed on Petri dishes containing 20 mL of solidified Mueller Hinton Agar (KASVI, Pinhals, PR, Brazil). Sterile filter paper

disks with a diameter of 6 mm were soaked with the essential oils or with the antibiotic chloraphenicol (1 mg mL^{-1}) and then placed on the solidified plates. Plates were incubated at 37 °C for 24 hours. The diameters of the inhibition zones were measured in millimeters with a caliper. Each assay was performed in triplicate.

2.3.3. Determination of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

MIC tests were performed by the microdilution method, with some modifications (CLSI, 2019), using 96-well polystyrene microplates. Ten µL aliquots of standardized bacterial inocula (10^8 CFU mL^{-1}) were added to 300 µL of Mueller Hinton Broth solution containing 1% (v/v) surfactant (Tween 80, Synth) and essential oils at concentrations of 283.32, 141.66, 70.83, 35.42, 17.71, 8.85, 4.43, 2.21, 1.11, 0.55, 0.28 and 0.14 mg mL^{-1} for *T. vulgaris*; 279.94, 139.97, 69.99, 34.99, 17.50, 8.75, 4.37, 2.19, 1.09, 0.55, 0.27 and 0.14 mg mL^{-1} for *S. officinalis;* and 291.06, 145.53, 72.77, 36.38, 18.19 , 9.10, 4.55, 2.27, 1.14, 0.57, 0.28 and 0.14 mg mL^{-1} for *O. basilicum*. The microplates were incubated at 37 °C for 24 hours. The positive control consisted of liquid medium, Mueller Hinton broth, surfactant and bacterial suspensions, and the negative control consisted of the liquid medium. The same procedure was performed for the antibiotic chloraphenicol (Sigma Aldrich) using concentrations ranging from 0.00048 to 1.0 mg mL^{-1}.

The MBC was determined according to the CLSI (2015), with some modifications. After microplate incubation, 10 µL of each well was seeded onto plates containing Mueller Hinton Agar (KASVI) (20 mL) and incubated at 37 °C for 24 hours. The lowest concentration that did not grow in the medium was considered to be the MBC. After incubation for 24 hour, 20 µL of rezasurin solution (0.01% w/v) (Sigma-Aldrich®) was added to each well as an indicator of cellular activity and mixed. The microplates were incubated for 2 hours at a temperature of 25 °C, and the change in color from blue to pink was observed. The MIC was considered to be the lowest concentration of essential oil in which there was no bacterial growth.

2.3.4. Scanning Electron Microscopy

The effect of the essential oils and the antibiotic on the morphology of the bacteria was evaluated by means of electron micrographs obtained using Scanning Electron Microscopes (SEM) types LEO EVO 40 and TESCAN CLARA. Samples in MIC and positive and negative controls were preserved in Karnovsky fixative solution [2.5%

glutaraldehyde, 2% formaldehyde, 0.05 mol L^{-1} cacodylate buffer at pH 7.2 (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brazil) and 0.001 mol L^{-1} $CaCl_2$] and stored at 4 °C for 24 h. Then, 30 µL aliquots of the samples were added to coverslips containing 0.5% poly-L-lysine, and the samples were air-dried for 10 minutes. The samples were washed three times for 10 min with sodium cacodylate buffer (0.05 mol L^{-1}, pH 7.2) and sequentially dehydrated with 25, 50, 75, and 90% acetone for 10 minutes and three times with 100% acetone for 10 minutes. The samples were dried in the critical point apparatus (Bal-Tec CPD 030 Balzers, Liechtenstein) to complete the drying process with carbon dioxide as the transition fluid. The samples were mounted on stubs, coated with gold sputter (Baltec model SCD 050 Balzers, Liechtenstein) and kept in the desiccator with silica gel until observation by SEM (Oliveira et al. 2017).

2.4. Antioxidant activity of essential oils

2.4.1. Stabilization of the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical

The DPPH free radical stability assay was determined according to the method described by Teixeira et al. (2023). To test tubes, 300 µL of ethanolic solutions of the essential oils at concentrations of 15, 25, 50, 100, 150, 250 and 500 µg mL^{-1} and 2700 µL of ethanolic DPPH solution (40 mg L^{-1}) were added. A negative control containing 2700 µL of DPPH stock solution and 300 µL of ethanol was prepared, and the positive control contained the antioxidant butylated hydroxytoluene (BHT) at the same concentrations as that of the essential oils. Analyses were performed in triplicate and readings were performed at 515 nm on a UV/Vis spectrophotometer (Shimadzu UV-160 1PC). The percentage of antioxidant activity (%AA_{DPPH}) was determined using Equation 1, and the antioxidant activity of the essential oils was expressed in IC_{50} (µg mL^{-1}), calculated from the equation for the graph of concentration versus %AA_{DPPH}:

$$\%AA_{DPPH} = 1 - \left[(A_{sample}/A_{control})x100\right] \quad (1)$$

Where A_{sample} is the absorbance of the analyzed sample and $A_{control}$ is the absorbance of the negative control.

2.4.2. β-Carotene bleaching assay

The assessment of antioxidant activity by the β-carotene bleaching assay was performed according to the method of Ferreira et al. (2019), with some modifications. An

emulsion was prepared in a round bottom flask by adding 0.003 g of β-carotene, 0.2 g of linoleic acid, 1 g of Tween-20 and 15 mL of chloroform. After homogenization, the chloroform was evaporated on a rotary evaporator (Büchi Rotavapor R114) for 1 hour at 50 ºC. The residue was dissolved in 500 mL of oxygen-saturated distilled water solution (emulsion A). A total of 300 µL of each of the essential oils was dissolved in ethanol at concentrations of 15, 25, 50, 100, 150, 250 and 500 µg mL^{-1}, and 2700 µL of emulsion A was added to the test tubes. The absorbance was read at 470 nm in a spectrophotometer (Shimadzu UV-1601PC) at time zero. The tubes were incubated at 50 °C, protected from light, for 1 hour, and the absorbance was read again at 470 nm. The negative control was prepared by adding 300 µL of ethanol and 2700 µL of emulsion. BHT was used as a positive control at the same concentrations used for the essential oils. Assays were performed in four replications, and the percentage of antioxidant activity by the β-carotene bleaching assay (%AA β-carotene) was calculated using Equation 2. The antioxidant activities of the essential oils were expressed as the IC_{50} (µg mL^{-1}), determined from the equation of the curve of concentration versus percentage of $AA_{\beta\text{-carotene}}$.

$$\%AA_{\beta-\text{carotene}} = 100x\{1 - [(A_0 - A_t)/(A_{00} - A_{0t})]\} \quad (2)$$

Where A_0 and A_{00} represent the sample and negative control absorbances at time zero, and A_t and A_{0t} correspond to the sample and negative control absorbances after 1 hour of incubation at 50 °C.

2.5. Evaluation of insecticidal activity

2.5.1. Rearing of *Drosophila suzukii*

The adult *D. suzukii* flies used in the bioassays were obtained from a stock colony created in the Molecular Entomology and Ecotoxicology Laboratory of the Entomology Department of the Federal University of Lavras. Laboratory rearing was conducted under controlled conditions at 25 ± 2 °C; relative humidity of 50 ± 10% and a photoperiod of 12L:12D. The flies were fed a diet prepared with water, brewer's yeast, corn flour, sugar, agar, propionic acid and methyl 4-hydroxybenzoate (Nipagin®) (Andreazza et al. 2016; Mendonça et al., 2019).

2.5.2. Evaluation of the toxicity of essential oils on *Drosophila suzukii*

Mortality bioassays of *D. suzukii* flies were conducted according to IRAC (Insecticide Resistance Action Committee) contact/ingestion exposure protocol number 026 (IRAC, 2011), with modifications (Pineda et al., 2023; De Souza et al., 2022). Two-cm dental cottons were inoculated with 2.2 mL of DMSO, aqueous sugar solution (20% w/v) and *T. vulgaris* essential oil (concentrations ranging from 1 to 5 µL mL^{-1}, which corresponded to 0.94 and 4.72 mg mL^{-1}); *S. officinalis* (concentrations between 3 and 7 µL mL^{-1}, which corresponded to 2.79 and 6.53 mg mL^{-1}) and *O. basilicum* (concentrations between 0.1 and 2.75 µL mL^{-1}, which corresponded to 0.09 and 2.67 mg mL^{-1}) and transferred to 200-mL glass vials. Twenty-five unsexed insects of the same age (48 to 72 hours after emergence) were introduced into the glass vials. These flasks were closed with foam caps and kept in the laboratory at a temperature of 25 ± 2 °C, relative humidity of 50 ± 10% and photoperiod of 12L:12D. The tests were performed in quadruplicate, and the synthetic insecticide Spinetoram (Delegate®) (concentrations ranging from 0.000128 to 0.0016 mg mL^{-1}) was used as a positive control. The negative control was an aqueous sugar solution (20% w/v) containing 2.2 mL of DMSO. After 24 h, the mortality of the flies was visually evaluated. Flies that did not move after brush stimulation were considered dead.

2.6. Statistical analysis

The treatments were applied through 4 x 2 (essential oils/positive control x bacteria) and 4 x 7 (essential oils/positive control x concentrations) factorial designs, respectively, for disk diffusion and antioxidant activities. Analysis of variance (ANOVA) and the Tukey test with a significance level of 5% ($P \leq 0.05$) were performed using the Sisvar software. The IC_{50} data were submitted to a completly randomized design, and the means were compared by the Tukey test with a 5% significance level ($P \leq 0.05$) using the Sisvar software (Ferreira, 2011).

Dose-mortality data were submitted to probit analysis (SAS Institute, Cary, NC, USA) to estimate lethal concentrations (LC_{50} and LC_{95}). Confidence intervals for toxicity rates (TRs) were estimated according to the method of Robertson et al. (2017), and their values were considered significantly different if the range did not include the value 1.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Chemical composition of essential oils

Aromatic and medicinal plants produce a wide range of secondary metabolites, like essential oils, to cope with different stress situations. The diversity of stress conditions resulted in a diversity in chemical compositions of the secondary metabolites and offered opportunities for their application in different areas of interest (Ed-Dra et al., 2020).

Our findings showed that the yields of essential oils, based on dry weight, differed between plant species, being 0.44%, 0.1% and 0.25%, respectively, for essential oils from *T. vulgaris*, *S. officinalis* and *O. basilicum*. A total of 13, 10 and 13 constituents were identified in the essential oils from *T. vulgaris, S. officinalis* and *O. basilicum*, respectively (Table 1).

TABLE 1 Chemical composition of the essential oils from *Thymus vulgaris, Salvia officinalis* and *Ocimum basilicum.*

Peak	Compound	RT (min)	RI_{ref}	RI_{cal}	Area (%)		
					T. vulgaris	***S. officinalis***	***O. basilicum***
1	α-Pinene	6.465	932	933	0.61	0.22	-
2	Camphene	6.958	946	950	0.33	5.16	-
3	**β-Pinene**	7.806	974	979	-	**11.73**	-
4	Myrcene	8.064	988	987	-	0.08	0.83
5	α-Terpinene	9.007	1014	1017	0.39	-	-
6	***ρ*-Cymene**	9.354	1020	1025	**22.83**	3.25	-
7	Limonene	9.533	1024	1029	0.28	0.62	-
8	**1,8-Cineole**	9.664	1026	1032	0.82	**10.21**	**12.69**
9	γ-Terpinene	10.613	1054	1057	1.19	-	-
10	**Linalool**	12.211	1095	1099	2.39	-	**27.70**
11	**Camphor**	14.287	1141	1147	-	**63.37**	-
12	Borneol	15.351	1165	1172	1.50	4.61	-
13	Terpinen-4-ol	15.704	1174	1180	1.02	-	1.12
14	α-Terpinenol	16.331	1186	1195	-	-	1.41
15	Bornyl acetate	20.200	1284	1283	-	0.75	-
16	**(E)-Anethole**	20.211	1282	1287	1.33	-	**33.06**
17	**Thymol**	20.464	**1289**	**1293**	**62.67**	-	-
18	**Carvacrol**	**20.781**	**1298**	**1300**	**4.64**	-	-
19	Eugenol	23.127	1351	1356	-	-	0.84
20	(E)-Methyl cinnamate	24.488	1383	1.376	-	-	4.59
21	Methyl-eugenol	25.146	1398	1.403	-	-	6.34
22	α-*trans*-Bergamotene	26.550	1432	1432	-	-	2.73
23	Germacrene D	28.533	1480	1484	-	-	0.89
24	γ-Cadinene	29.834	1512	1513	-	-	0.10
25	α-epi-Muurolol	34.839	1640	1640	-	-	7.70
Composition							
	Monoterpene hydrocarbons				25.63	21.06	0.83
	Sesquiterpene hydrocarbons				0.00	0	3.72
	Oxygenated monoterpenes				74.37	78.19	75.98
	Oxygenated Sysquiterpenes				0.00	0.00	7.70
	Other				0.00	0.75	11.77
	Total identified (%)				100.00	100.00	100.00

RT: Retention time; RI_{ref}: Reference retention index (Adams, 2017); RI_{cal}: Calculated retention index.

The principal constituents in the essential oil from *T. vulgaris* were thymol, *ρ*-cymene and carvacrol (Table 1); those in the essential oil from *S. officinalis* were camphor, β-pinene and 1,8-cineole; and those in the essential oil from *O. basilicum* were (*E*)-anethole, linalool and 1,8-cineole. Similar to the results obtained in the present study, Zanotto et al (2023) found thymol (45.95%) as the principal constituent in the essential oil from *T. vulgaris*, followed by *ρ*-cymene (25.11%). Liu et al. (2021) observed that thymol (26.18%) was the principal constituent found in the essential oil from *T. vulgaris*, followed by 1,3,8-*p*-menthatriene (25.16%), limonene (12.37 %), α-pinene (8.47%) and α-terpineol (4.92%). Studies carried out by Orhan-Yanıkan et al. (2022) evaluated the chemical composition of the essential oil from *T. vulgaris* and obtained d-carvone (44.88%), ϒ-terpinene (15.69%) and *ρ*-cymene (10.76%) as the main constituents.

The results obtained by Temerdashev et al. (2020) partially corroborate those found in this study, in which camphor (37.29%) was the most abundant compound in the essential oil from *S. officinalis*, followed by constituents with a lower abundance, such as α-thujone (21.87%) and 1,8-cineole (9.76%). Some constituents detected in this study were also reported by Assaggaf et al. (2022). They evaluated the chemical composition of the essential oil from *S. officinalis* and observed that the amounts of constituents are influenced by phenological stages such as the vegetative phase, the beginning of the flowering phase and the full flowering phase. The main compounds identified were naphthalenone (20.81-22.9%), camphor (14.35-16.29%), eremophilene (7.25%), *trans*-caryophyllene (8.91%) and 1,8-cineole (10.75%).

Brandão et al. (2022) studied the essential oil from *O. basilicum* and observed that the principal constituents were linalool (26.89%), 1,8-cineole (23.62%) and camphor (15.69%). At the same time, Alimi et al. (2022) reported that trazole (80.87%) and linalool (16.12%) were the main constituents of the essential oil from *O. basilicum*, with a yield of 0.24%.

Oxygenated monoterpene was the largest chemical class that predominated in the three essential oils. Factors such as genetic composition, species origin, growing regions and portion of the plant, availability of minerals in the soil, soil type, environmental conditions such as temperature, amount of daylight, frequency of irrigation, fertilizers and extraction methods influence plant metabolism and, consequently, the synthesis of secondary metabolites. Jointly with extraction methods, such factors can result in different yields and chemical composition profiles of essential oils of the same species (Rioba et al., 2015; Hosseini et al., 2021; Da Cunha Honorato et al., 2023).

3.2. Antibacterial Activity

3.2.1. Disk diffusion methods

The largest inhibition zones were observed with the essential oil obtained from *T. vulgaris*. Substantial inhibitory effects on both bacterial strains were observed, resulting in inhibition zone diameters of 26.38 ± 0.33 mm and 46.16 ± 0.16 mm for *L. monocytogenes* and *S. choleraesuis,* respectively. In comparison, the essential oils extracted from *O. basilicum* and *S. officinais* displayed relatively weak activity against these bacterial strains. The inhibition diameters measured 8.57 ± 0.21 mm for *L. monocytogenes* and 13.30 ± 0.61 mm for *S. choleraesuis* ($P \leq 0.05$) when the essential oil from *O. basilicum* was tested. These halos measured 9.27 ± 0.15 mm and 12.05 ± 0 .13 mm when the essential oil from *S. officinalis* was tested against *L. monocytogenes and* and *S. choleraesuis* (p<0 .05), respectively. With regard to the treatment with the commercial antibiotic, the inhibition halo recorded was 18.10 ± 1 mm and 22.49 ± 0.39 mm for *L. monocytogenesus a*nd *S. choleraesuis*, respectively ($p \leq 0.05$) (Figure 1).

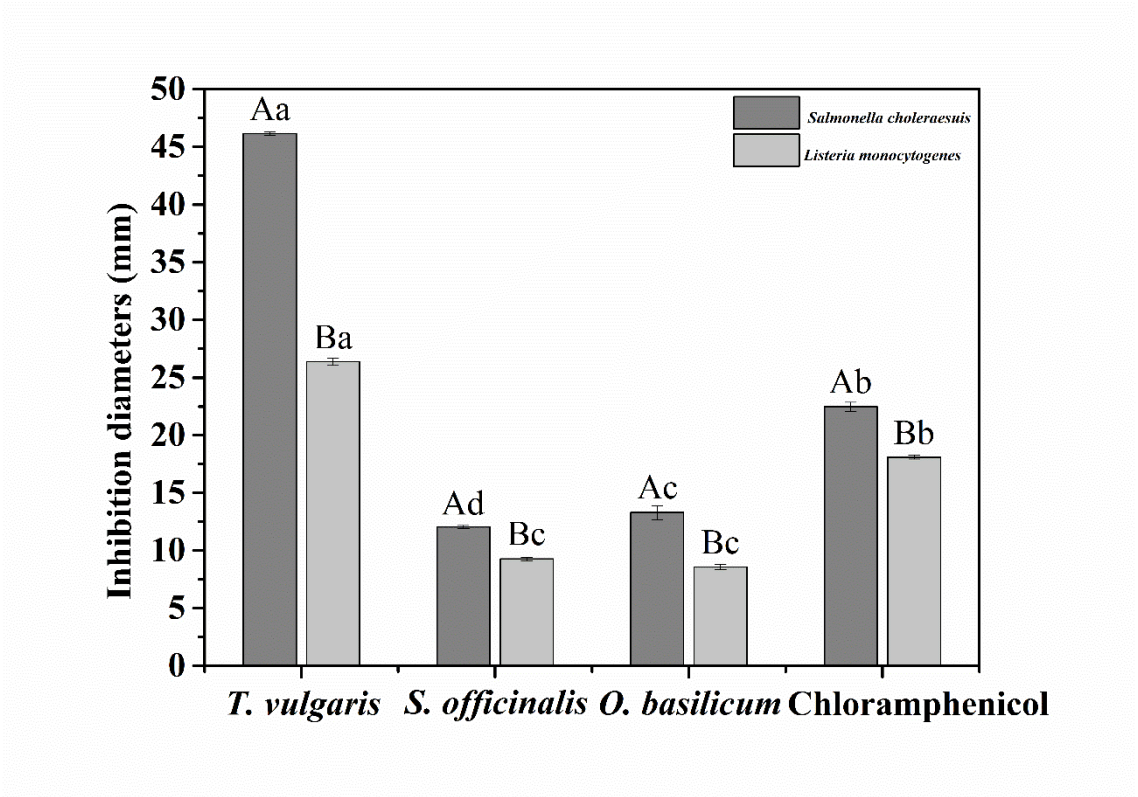


FIGURE 1 Inhibition diameters (mm) of essential oils tested on strains of *Salmonella choleraesuis* and *Listeria monocytogenes*. Means followed by the same lowercase letter compare each essential oil/positive control within each bacterium, and those followed by the same capital letter compare the bacteria within each essential oil/positive control by Tukey's test at 5% probability.

Ed-Dra et al. (2020) reported that the antibacterial activity can be classified according to the inhibition diameter. It is considered weak when the inhibition zone is less than or equal to 12.0 mm, intermediate when this zone is between 12.1 to 20.0 mm and strong when it is greater than or equal to 20.1 mm. This activity depends on factors such as bacterial strain and chemical composition of the essential oils.

The greater antibacterial activity of *T. vulgaris* essential oil on bacteria is probably related to the presence of thymol, which has effective antibacterial effects on many pathogens (Liu et al., 2021; Jafri and Ahmad, 2020). The strain that was most sensitive to the essential oils was *S. choleraesuis*, a Gram-negative bacterium. Typically, Gram-negative bacteria are known to be resistant to different essential oils. This resistance is due to the fact that Gram-negative bacteria have a more complex membrane, limiting the penetration of hydrophobic components through the lipopolysaccharide layer (Lakhdari

et al., 2020; Oualdi et al., 2023). The antibiotic chloramphenicol exhibited antibacterial activity against both strains.

The antibacterial activity of essential oils is influenced by the essential oil concentration and the bacterial strain tested. The antibactiral activities of the essential oils can be due to their ability to interfere with the selective permeability barrier of cell membrane structures and the consequent loss of control of chemiosmosis. Furthermore, essential oils can cause cytoplasmic coagulation and damage to lipids and proteins (Firdous et al., 2023). ≥

3.2.2. Determination of MIC and MBC

The essential oil from *T. vulgaris* and the antibiotic chloramphenicol exhibited bacteriostatic and bactericidal activities against both bacteria. *S. officinalis* and *O. basilicum* essential oils acted only as bacteriostatic agents (Table 2). According to Firdous et al. (2023), the biological activities of essential oils are typically difficult to correlate with a specific compound. However, there is likely a relationship between the most abundant components of the essential oil and its antibacterial activity.

TABLE 2 Minimum inhibitory and bactericidal concentrations of essential oils and the positive control against *Salmonella choleraesuis* and *Listeria monocytogenes.*

Essential oil/Positive control	***S. choleraesuis***		***L. monocytogenes***	
	MIC (mg mL^{-1})	**MBC (mg mL^{-1})**	**MIC (mg mL^{-1})**	**MBC (mg mL^{-1})**
T. vulgaris	8.85	283.32	17.71	70.83
S. officinalis	17.50	NI	139.97	NI
O. basilicum	18.19	NI	145.53	NI
Chloramphenicol	0.0020	0.063	0.004	0.063

NI: No inhibition at the concentration utilized.

The greatest activity against the bacteria was observed for the essential oil from *T. vulgaris.* The lowest MIC was observed with this essential oil, probably because of the presence of the principal constituent thymol, a phenolic monoterpene. The second highest activity was observed for the essential oil from *S. officinalis*, in which the principal constituent was camphor, a ketone. The lowest activity was found for the essential oil from *O. basilicum*, in which (*E*)-anethole, an ether, predominated.

Essential oils with a high phenolic monoterpene proportion, especially thymol, have the strongest antibacterial characteristics when compared to others that do not have phenolic monoterpenes in their composition (Goodarzi et al., 2023). For Sharma et al. (2023), Liu et al. (2021) and Radünz et al (2020), the thymol acts by destroying the lipid structure of the bacterial cell wall, resulting in disruption of the integrity of the bacterial cell membrane, the loss of cell content such as ions, ATP, and nucleic acids and, finally, cell death.

Gharib et al. (2017) and Auezova et al. (2020) observed that the main site of action of anethole in bacterial cells occurs on the phospholipid membrane because this constituent is capable of interacting with polar choline groups and acylhydrophobic chains of phospholipids, incorporating itself into the lipid bilayer and fluidizing it. Aydemir et al. (2018) state that *trans*-anethole also has the capacity of inhibition by quorum sensing as a mechanism of action that is used by pathogenic bacteria to control the expression of virulence genes. Disruption of quorum sensing systems leads to bacterial death.

Nogueira et al. (2021) evaluated the antibacterial activity of different standards against Gram-positive and Gram-negative bacteria. They determined that oxygenated aromatic compounds containing aldehyde, ketone, phenolic or acidic groups possessed antibacterial properties superior to those derived from oxygenated aliphatic terpenes. This study's findings are consistent with those of Kalemba and Kunicka (2003) and Nogueira et al. (2021), who assert that the biological activity of essential oil constituents decreases in the following order: phenols, aldehydes, ketones, alcohols, ethers and hydrocarbons. Lipophilic compounds composed only of carbon have an affinity for plasma membrane lipid layers. However, polar groups with hydrophilic characteristics' can interact with polar cell structures such as proteins and carbohydrates, thereby ensuring that the essential oils possess high antimicrobial activity (Nogueira et al., 2021).

Salmonella choleraesuis is a Gram-negative bacterium that is less resistant to essential oils than *L. monocytogenes,* as observed through the comparison of the MIC values with those of antibiotics. These results align with those of Silva et al. (2021), who evaluated the MIC and MBC of eugenol and linalool on *E. coli, L. monocytogenes Salmonella* and *S. aureus,* where Gram-positive bacteria were more resistant than Gram-negative bacteria. Hence, the intrinsic properties of each bacterium's cell wall structure likely play a role in facilitating or preventing penetration by essential oil constituents (Silva et al., 2021).

Paudel et al. (2019) studied the influence of nanoemulsions of cinnamon essential oil on different strains of *L. monocytogenes* and *Salmonella spp*. They observed lower MIC values for *Salmonella spp* strains than for *L. monocytogenes*, (0.039 and 0.78%, respectively), and the same MBC value for *L. monocytogenes* and *Salmonella spp* strains (0.78%). This result shows that the antibacterial activity of essential oils is related to the chemical components present, the bacterial strains tested and the methods used (Ed-Dra et al., 2020; Silva et al., 2021).

Studies carried out by Gomes-Carneiro et al. (1998); Kotan et al. (2007) and Ed-Dra et al. (2020) showed that camphor, the principal compound in the essential oil from *S. officinalis*, exhibits low activity or is inactive against some bacteria, which agrees with the moderate activity of this essential oil. Almeida et al. (2023) stated that the minor components and the synergism of the components of essential oils are important to the microbial activity of essential oils.

The lower sensitivity of *L. monocytogenes* to essential oils and antibiotics is probably due to the high resistance of this bacterium to antibiotics already consolidated in the market, such as ampicillin, tetracycline, chloramphenicol and streptomycin, as well as to adverse environmental stresses such as low pH and food preservation technologies such as pasteurization, high hydrostatic pressure, sonication, microwaves and irradiation. This resistance of *L. monocytogenes* makes it a worrisome problem because it is responsible for many foodborne outbreaks that can be lethal (Ulusoy and Chirkena, 2019; Bahrami, et al., 2020; Wu et al., 2022).

Studies performed by Ulusoy and Chirkena (2019) show that *L. monocytogenes* is resistant to antibiotics of human and veterinary importance such as ampicillin, tetracycline and chloramphenicol, streptomycin, erythromycin, and penicillin G, among others. Resistance to the antibiotic tetracycline is related to the presence of ribosomal protection genes; resistance to the antibiotic trimethoprim is due to the acquisition of genes that encode trimethoprim-resistant dihydrofolate reductases; and resistance to the antibiotic gentamicin is due to the presence of an efflux pump conferring resistance to benzalkonium chloride (Baquero et al., 2020). Therefore, the substances that inhibit the growth and development of this pathogenic bacteria in food, such as essential oils, are being increasingly studied.

3.2.3. Scanning Electron Microscopy

Morphological changes in bacterial cells exposed to treatments are observed using electromicrographs. These images show the differences between untreated *S. choleraesuis* and *L. monocytogenes* (control) bacteria and those subjected to sublethal stress through treatments (MIC) of essential oils from *T. vulgaris*, *S. officinalis*, *O. basilicum* and the antibiotic chloramphenicol (Figure 2).

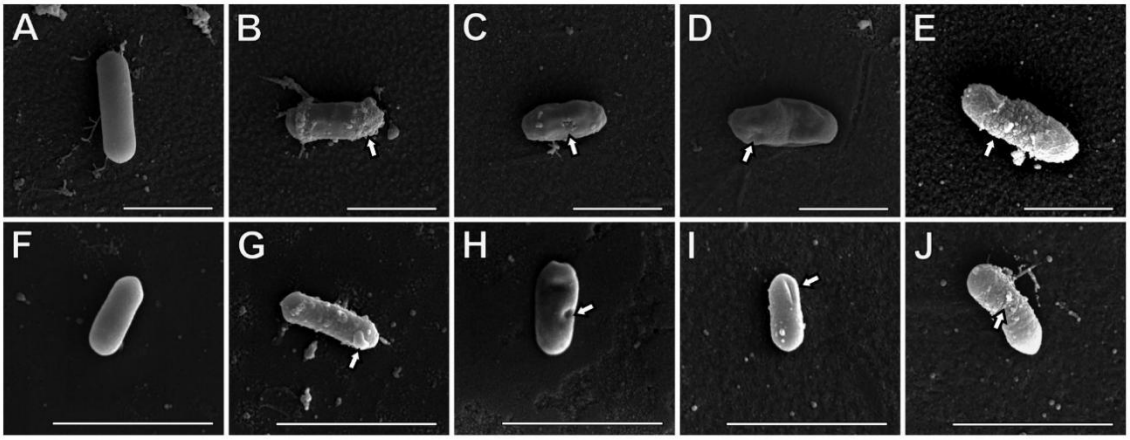


FIGURE 2 Scanning electron micrographs showing *S. choleraesuis* (A: untreated; B, C, D, E: treated) and *L. monocytogenes* (F: untreated; G, H, I, J: treated) with the essential oils from *T. vulgaris, S. officinalis, O. basilicum* and chloramphenicol, respectively. The size bars in A, B, C, D, E, F, G, H, I and J are 2 μm.

Untreated bacterial cells (Figure 2 - A and F) had a smooth surface and an intact cell membrane. Treatment with the essential oils and the antibiotic resulted in significant changes in the structures of the bacteria, leaving damaged, deformed cells and ruptured membranes. Morphological changes in bacterial cells after exposure to the MIC included wrinkled and deformed surfaces (Figure 2-D) and collapsed surfaces (Figure 2-H, I). The presence of holes in the bacterial wall was also observed (Figure 2-C).

In some treatments, morphological deformations were observed on cell surfaces, such as circular and wavy elevations (Figure 2-B, E, G, J). According to Pagnossa et al. (2021), this deformation might be the result of overexpression of fatty acid derivatives and their precursors, such as amides and esters. Fatty acids are essential for the formation of the cell membrane, and after recovery from sublethal stress, they can accumulate disorderly on the surface of the cell wall of bacteria.

According to Turgis et al. (2009), the type of damage observed by SEM can be different for different bacteria, even those treated with the same essential oil, as was

observed in the present study. The antibacterial mechanisms of essential oils do not occur in a single mode of action, but rather through the multiple action of constituents that can act on different areas of bacterial cells (Ed-Dra et al., 2020).

The mechanisms of action of essential oils include degradation of the cell wall, damage to the cytoplasmic membrane, coagulation of the cytoplasm, damage to membrane proteins, increased permeability that causes the leakage of cell contents, reduction in the proton motive force, electron flow, active transport, coagulation of cell contents, lower intracellular ATP synthesis, destruction of the DNA structure and reduction of membrane potential (Firdous et al., 2023). In general, the biological activities of essential oils are the result of synergistic, antagonistic or both effects that result from their complex mixtures of terpenes and phenylpropanoids (Jaouadi et al.,2023).

3.3. Antioxidant potential of the essential oils

The antioxidant activity of the essential oils from *T. vulgaris*, *S. officinalis* and *O. basilicum* and the positive control BHT were determined by spectrophotometric techniques that were based on the elimination of DPPH radicals and bleaching of β-carotene. Two different methods were used to assess the antioxidant capacity of the components present in the essential oils because a single method cannot identify all the possible mechanisms that characterize an antioxidant (Jaouadi et al., 2023). A correlation was observed between antioxidant activities and concentration, with a dose-dependent relationship in the two methods used (Figure 3). The variation in the results observed between the samples is related to the difference in the composition of the essential oils.

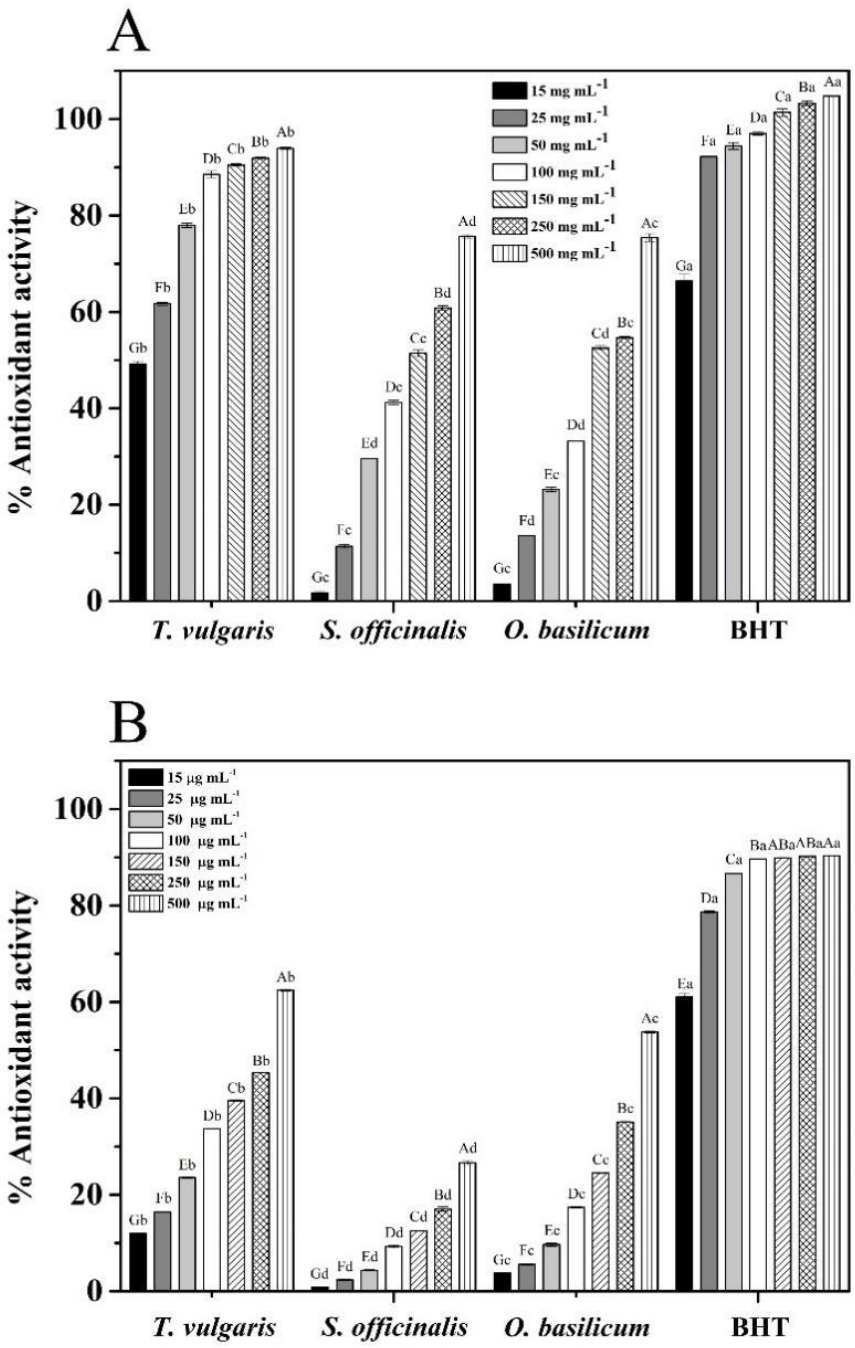


FIGURE 3 Behavior of essential oils from *T. vulgaris, S. officinalis, O. basilicum* and the positive control BHT in stabilizing the DPPH radical (A) and in the β-carotene bleaching assay (B). *Means followed by the same uppercase letter, comparing the concentrations within each essential oil/BHT, and by the same lowercase letter, comparing the essential oils/positive control within each concentration, do not differ significantly by the Tukey test at 5% probability.

The IC_{50} represents the concentration required to stabilize and safeguard 50% of the free radicals and lipid substrates in the DPPH and β-carotene tests, respectively. Thus, a lower IC_{50} denotes greater antioxidant activity for the essential oil being studied. In determining antioxidant activity through DPPH free radical scavenging, discoloration from purple to yellow occurs when antioxidants are present (Rezende et al., 2022). The highest levels of antioxidant activities were observed for the BHT control (IC_{50} 9.89 ± 0.08 μg mL^{-1}), followed by the essential oil from *T. vulgaris* (IC_{50} 231.13 ± 0.53 μg mL^{-1}), as is presented in Table 3. The essential oil from *T. vulgaris* is well-known for its high in vitro antioxidant activity that is often linked to constituents having phenolic characteristics such as thymol, which has been proven to have an effective antioxidative effect (Sharma et al., 2023). Thymol 's antioxidative property stems from its oxidation-reduction nature, where it functions as a reducing agent by donating hydrogen atoms to free radicals to scavenge them and to stabilize them by resonance (Orlo et al., 2023).

TABLE 3 Antioxidant activity (IC_{50}) values obtained from testing essential oils extracted from *T.vulgaris, S.officinalis*, and *O.basilicum,* using BHT as a positive control.

Essential oil/Positive control	**Antioxidant method**	
	DPPH	**β-carotene**
	IC_{50} (μg mL^{-1})	
T. vulgaris	231.13 ± 0.53[b]	15.25 ± 0.38[c]
S. officinalis	> 500	136.00 ± 1.84[b]
O. basilicum	434.67 ± 1.21[a]	167.41 ± 1.73[a]
BHT	9.89 ± 0.08[c]	7.44 ± 0.27[d]

Means followed by the same lowercase letters in the columns do not differ by Tukey's test at the 5% level of probability.

A lower antioxidant activity was observed for the essential oil from *S. officinalis* (IC_{50} >500 μg mL^{-1}). The chemical composition of this essential oil does not favor the elimination of free radicals, such as DPPH, through the donation of electrons or hydrogen atoms because this essential oil contains camphor (63.37%), a ketone. This constituent, when donating an electron for the stabilization of the DPPH radical, does not generate a resonance hybrid. It forms a chemically unstable species, unlike phenolic compounds (Dewick, 2009).

Research by Ferreira et al. (2019) reports that constituents with phenolic characteristics confer the ability to stabilize free radicals by transferring protons or electrons. The antioxidant activity of essential oils tends to be lower or even absent when there is an absence of phenolic constituents. The greatest capacity of the constituents of essential oils to donate hydrogens or electrons to stabilize free radicals are in this order: phenylpropanoids, phenolic terpenoids, alcohols and terpenes (mono and sesquiterpenes).

To evaluate the inhibition of lipid peroxidation, the β-carotene method was used, in which the ability of essential oils to protect lipid substrates from oxidation can be verified. During the test, the orange color of β-carotene fades in the absence of an antioxidant. This discoloration is caused by the formation of free radicals after the loss of a hydrogen atom from a methylene diallyl group of linoleic acid, which reacts with the double bonds of the β-carotene molecule, promoting its degradation (Teixeria et al., 2022).

A lower IC_{50} for the β-carotene bleaching test was observed for the samples, that is, better results than for the DPPH free radical reduction test. BHT (IC_{50}: 7.44 ± 0.27 μg mL^{-1}) had the greatest protective activity, followed by the essential oils from *T. vulgaris* (IC_{50}: 15.25 ± 0.38), *S. officinanis* (IC_{50}: 136.00 ± 1.84 μg mL^{-1}) and *O. basilicum* (IC_{50}: 167.41 ± 1.73 μg mL^{-1}).

3.4. Evaluation of the toxicity of essential oils for *Drosophila suzukii*

The toxicities of the essential oils for *D. suzukii* flies after 24 hours of application are presented in Table 4. Mortality levels were obtained using dose-mortality assays described by the probit model (adequacy of fit tests with low χ^2 values (<12) and high *p* values (>0.05)). The LC_{50} of the synthetic insecticide (Delegate) was 0.0009 mg mL^{-1}. The toxicities of essential oils from *T. vulgaris, S. officinalis*, and *O. basilicum* were LC_{50}=1.24 mg mL^{-1}, LC_{50}=3.51 mg mL^{-1}, and LC_{50}=1.19 mg mL^{-1}, respectively.

TABLE 4 Estimate of the LC_{50} and LC_{95} (in mg mL^{-1}) of essential oils from *T. vulgaris, S. officinalis,* and *O. basilicum* and the synthetic insecticide (Delegate) against *Drosophila suzukii.*

Essential oil/Positive control	**Number of Insects**	**LC_{50} (95% IF) (mg mL^{-1})**	**LC_{95} (95% IF) (mg mL^{-1})**	**X^2**	***p***	**TR LC_{50} (95% IF)**
T. vulgaris	600	1.24(1.14-1.33)	2.93(2.55-3.55)	4.8124	0.1861	1.07(0.92-1.08)
S. officinalis	500	3.51(3.18-3.78)	8.63(7.42-10.88)	2.7617	0.2514	3.06(3.07-3.08)
O. basilicum	800	1.19(1.08-1.28)	2.29(2.1-2.5638)	4.1497	0.5281	*
Delegate	900	0.0009 (0.0008-0.0016)	0.00158(0.0013-0.0021)	6.8971	0.0753	-

Where LC_{50} is the lethal concentration for 50% of the individuals and LC_{95} is the lethal concentration for 95% of the individuals; (95% IF) represents the 95% fiducial range; X^2 is the chi-square for lack of fit to the probit model; *p* is the probability associated with the chi-square statistic; TR: toxicity ratio= LC_{50} of the oil over the LC_{50} of the oil with lowest LC_{50} value, with a 95% confidence limit; * oil used as a reference for calculating the TR LC_{50}.

A lower LC_{50} (1.19 mg mL^{-1}) was observed for the essential oil from *O. basilicum*, that is, a higher toxicological activity. Thus, the toxicity ratios (TR) were calculated relative to this essential oil. The essential oil from *T. vulgaris* was equally lethal, and that from *S. officinalis* was one-third as lethal to *D. suzukii* as the essential oil from *O. basilicum*.

A higher concentration of essential oils was necessary to obtain the same LC_{50} as was obtained with the positive control, Delegate. Corroborating the results of this study, Park et al. (2017), Jung et al. (2017), and Dam et al. (2019) state that synthetic insecticides generally exhibit insecticidal activity approximately a thousand times greater than that of the essential oils tested. Although a lower concentration of synthetic insecticides was required when compared to essential oils, they could induce much higher hazards to non-target organisms than essential oils and their components (Jang et al., 2017).

De Souza et al. (2022) evaluated the effects of different essential oils on *D. suzukii* and observed greater toxicological results for the essential oil from *Illicium verum*, obtaining LC_{50} values of 1.9 μL mL^{-1}. Their results corroborate those obtained in this study. This high insecticidal activity of the essential oil from *I. verum* was related to the action of its principal constituent, the phenylpropanoid (*E*)-anethole (99.61%). The principal constituent present in the essential oil of *O. basilicum* presented an LC_{50} of 1.23 μL mL^{-1}, showing that the E-Z isomerism of the anethole is probably not crucial for the toxic activity against *D. suzukii.* The essential oil of *I. veru*m, whose principal constituent was (E)-anethole, caused changes to epithelial thickness and carbohydrate distribution in the midgut of *D. suzukii* (De Souza et al., 2022).

Thymol has toxic neurological effects and causes neuronal degeneration through direct binding to GABA receptors in *D. melanogaster*, in addition to showing a highly significant level of repellency towards males and females of *D. suzukii* (Nesterkina et al., 2023;7 Finetti et al., 2020).

Wang et al. (2021) evaluated the effect of the essential oil from peppermint and its constituents menthone, (-)-menthol, menthyl acetate, (R)-(+)-limonene, nerol, (+)-fenchone, (-)-α-thujone, camphor, and norcamphor on the *Drosophila melanogaste*r and *D. suzukii* flies. They observed that camphor is a strong repellent for *D. melanogaster.* However, camphor had little repellent activity against *D. suzukii,* which corroborates the results of the present study. There are differences in the olfactory systems of these insects, possibly reflecting their distinct ecological and behavioral adaptations. In addition to *D. melanogaster*, camphor has a strong repellent activity against many species of mosquitoes, the red flour beetle (*Tribolium castaneum*) and the tobacco beetle (*Lasioderma serricorne*) (Wang et al., 2021).

According to Finetti et al. (2020), the biological activity of essential oil constituents is related to functional groups and different modes of action in insects. Minority constituents of essential oils can interact and act synergistically, resulting in important activities (Pan et al., 2022).

For De Souza et al. (2022), direct contact with essential oils through fumigation, and, principally, ingestion can cause a reduction in the thickness of muscle fibers and the absence of glycogen in the thorax, deformities in the abdomen, wings, legs and pronotum. The small difference in the toxicity ratios between the essential oils studied shows that the essential oils from *T. vulgaris, S. officinalis* and *O. basilicum* have the potential to be used in the development of new insecticides for the management of the fly *D. suzukii.*

*H*owever, further studies are needed to assess the mode of action of the essential oils on the fly and its toxicity to non- target organisms.

Being formulated with only a single active ingredient, synthetic products, such as antioxidant (BHT), antibacterial (chloramphenicol) and insecticide (delegate) are consequently more efficient, as the active ingredient of the formulations effectively reaches the specific target. However, synthetic insecticides have many side effects, such as environmental problems, human health, and insect resistance. Essential oils, which are a complex mixture of terpenes and phenylpropanoids (Ferreira et al., 2019; Rezende et al., 2022; Majeed et al., 2023; Wang et al., 2023), proved to be a good alternative to synthetic products because their constituents can act synergistically, in addition to having different modes of action that could delay the development of resistance.

4. CONCLUSION

Our results show, firstly, that the three essential oils have bacteriostatic activities against the bacteria *S. choleraesuis* and *L. monocytogenes;* however, only the essential oil from *T. vulgaris* showed bactericidal activity. Secondly, the essential oils have antioxidant activity through the two methods evaluated, whereas the greatest activity was observered for the essential oil from *T. vulgaris* because of its chemical composition. Thirdly, essential oils have insecticidal activity against the *D. suzukii* fly, with the essential oil from *O. basilicum* being the most effective. These results confirm that essential oils have varying biological activities that depend on their chemical composition. Although not as effective as synthetic insecticides, these natural products can be applied in different areas, and being very volatile, they present little or no residual problems. In this way, the three essential oils can be used to develop natural product-based formulations that could have a wide range of applications due to their broad spectrum of biological activities.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Cassia Duarte Oliveira: Conceptualization; Investigation; Writing – original draft; Methodology; Writing– review & editing; Formal analysis;

Maria das Graças Cardoso: Conceptualization; Investigation; Funding acquisition; Writing – original draft; Methodology; Writing – review & editing; Formal analysis; Project administration; Resources; Supervision;

Luis Roberto Batista:Conceptualization; Writing – original draft; Methodology; Writing – review & editing;

Eduardo Alves: Conceptualization; Writing – original draft; Methodology;

Maria Beatriz Pereira Rosa: Investigation; Methodology;

Vanuzia Rodrigues Fernandes Ferreira: Investigation; Methodology;

Luciano de Souza: Investigation; Methodology;

Maria Pineda: Investigation; Methodology;

Antonia Isadora Fernandes: Investigation; Methodology;

David Lee Nelson:Writing – review & editing; Investigation; Methodology;

Khalid Haddi: Conceptualization; Writing – original draft; Methodology; Writing – review & editing.

ACKNOWLEDEMENTS

This work was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG - Project CAG/APQ 02390/2018), the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - Project CNPQ 311183/2022-0) and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) Finance code 001). The authors are thankful for the scholarships and financial support and thank the Central of Analysis and Chemical Prospecting of the Federal University of Lavras for supplying the equipment for chromatographic analyses and the Laboratory of Electron Microscopy and Analysis Ultrastructural of the Federal University of Lavras for supplying the equipment and technical support for experiments involving electron microscopy.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

Adams, R. P. (2017). Identification of essential oils components by gas chromatography/ mass spectroscopy, 4.1th ed. Carol Stream: Allured.

Alimi, D., Hajri, A., Jallouli, S., Sebai, H. (2022). Acaricidal and anthelmintic efficacy of *Ocimum basilicum* essential oil and its major constituents estragole and linalool, with insights on acetylcholinesterase inhibition. *Veterinary Parasitology*, 109743. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2022.109743

Almeida, J. M., Crippa, B. L., de Souza, V. V. M. A., Alonso, V. P. P., Júnior, E. D. M. S., Picone, C. S. F., Prata, A. S., & Silva, N. C. C. (2023). Antimicrobial action of Oregano, Thyme, Clove, Cinnamon and Black pepper essential oils free and encapsulated against foodborne pathogens. *Food Control*, *144*, 109356. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109356

Andreazza, F., Bernardi, D., Marangon, R., Scheunemann, T., Botton, M., & Nava, D. (2016). Técnica de Criação de *Drosophila Suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera: Drosophilidae) Em Dieta Artificial; Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento/Embrapa Clima Temperado.

Assaggaf, H. M., Naceiri Mrabti, H., Rajab, B. S., Attar, A. A., Alyamani, R. A., Hamed, M., Omari, N.E.; Menyiy, N. E.; Hazzoumi, Z.; Benali, T.; Al-Mijalli, S. H.; Zengin, G.; Aldhaheri, Y.; Eid, A.; Bouyahya, A. (2022). Chemical Analysis and Investigation of Biological Effects of *Salvia officinalis* essential oils at three phenological stages. *Molecules*, *27*(16), 5157. https://doi.org/10.3390/molecules27165157

Auezova, L., Najjar, A., Kfoury, M., Fourmentin, S., & Greige-Gerges, H. (2020). Antibacterial activity of free or encapsulated selected phenylpropanoids against *Escherichia coli* and *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Applied Microbiology*, *128*(3), 710-720. https://doi.org/10.1111/jam.14516

Aydemir, D.H., Çifci, G., Aviyente, V., & Boşgelmez-Tinaz, G. (2018). Quorum-sensing inhibitor potential of trans-anethole aganist *Pseudomonas Aeruginosa*. *Journal of Applied Microbiology*, *125*(3), 731-739. https://doi.org/10.1111/jam.13892

Bahrami, A., Baboli, Z. M., Schimmel, K., Jafari, S. M., & Williams, L. (2020). Efficiency of novel processing technologies for the control of *Listeria monocytogenes* in food products. *Trends in Food Science & Technology*, *96*, 61-78. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.009

Baquero, F., F. Lanza, V., Duval, M., & Coque, T. M. (2020). Ecogenetics of antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes*. *Molecular microbiology*, *113*(3), 570-579. https://doi.org/10.1111/mmi.14454

Brandão, R. M., Cardoso, M. G., Batista, L. R., Caetano, A. R. S., Lemos, A. C. C., Martins, M. A., Nelson, D. L.; De Oliveira, J. E. (2022). Antifungal and physicochemical properties of Ocimum essential oil loaded in poly (lactic acid) nanofibers. *Letters in Applied Microbiology*, *74*(5), 765-776. https://doi.org/10.1111/lam.13661

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) (2010) Métodos de Farmacognosia. In: Mendes, J.C.C. ed. Farmacopeia Brasileira. Brasília, Brasil: Fiocruz, 5th ed.; n. 1, 198-199.

CLSI (2015). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, CLSI Standard Document M7–A10, 10th ed., Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.

CLSI (2019). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 29th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.

Da Cunha Honorato, A., Nohara, G. A., de Assis, R. M., Maciel, J. F., de Carvalho, A. A., Pinto, J. E., & Bertolucci, S. K. (2023). Colored shade nets and different harvest times alter the growth, antioxidant status, and quantitative attributes of glandular trichomes and essential oil of T*hymus vulgaris* L. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, *35*, 100474. https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2023.100474

Dam, D., Molitor, D., & Beyer, M. (2019). Natural compounds for controlling *Drosophila suzukii*. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *39*(6), 53. https://doi.org/10.1007/s13593-019-0593-z

De Souza, L., Cardoso, M. G., Konig, I. F. M., Ferreira, V. R. F., Caetano, A. R. S., Campolina, G. A., & Haddi, K. (2022). Toxicity, Histopathological Alterations and Acetylcholinesterase Inhibition of Illicium verum Essential Oil in Drosophila suzukii. *Agriculture*, *12*(10), 1667. https://doi.org/10.3390/agriculture12101667

Dewick, P. M. The Shikimate Pathway: Aromatic Amino Acids and Phenylpropanoids. *Medicinal Natural Products,* 2009, *137*, 86.

Ed-Dra, A., Filali, F. R., Presti, V. L., Zekkori, B., Nalbone, L., Bouymajane, A., Giuffrida, A., Giarratana, F., & Giarratana, F. (2020). Chemical composition, antioxidant capacity and antibacterial action of five Moroccan essential oils against *Listeria monocytogenes* and different serotypes of *Salmonella enterica*. *Microbial Pathogenesis*, *149*, 104510. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104510

Ferreira, D.F. (2011) Sisvar: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia 35*, 1039–1042. https://doi.org/10.1590/S1413-70542011000600001

Ferreira, V. R. F., Brandão, R. M., Freitas, M. P., Saczk, A. A., Felix, F. S., Silla, J. M., Teixeira, M. L., & Cardoso, M. G. (2019). Colorimetric, electroanalytical and theoretical evaluation of the antioxidant activity of *Syzygium aromaticum* L., *Origanum vulgare* L., *Mentha spicata* L. and *Eremanthus erythropappus* M. essential oils, and their major constituents. *New Journal of Chemistry*, *43*(20), 7653-7662. https://doi.org/10.1039/C8NJ05893H

Finetti, L., Ferrari, F., Caló, G., Cassanelli, S., De Bastiani, M., Civolani, S., & Bernacchia, G. (2020). Modulation of Drosophila suzukii type 1 tyramine receptor (DsTAR1) by monoterpenes: a potential new target for next generation biopesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *165*, 104549. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.02.015

Firdous, S., Bhat, S. H., Aziz, S., Jehangir, M., Syeed, S., Iqra, Z., Ahmad, M. A., Rasool, S., Khursheed, A., Shalla, A. H., Ganaie, A. A., & Rather, M. A. (2023). Antibacterial potential of *Thymus linearis* essential oil collected from Wasturwan mountain: A combination of experimental and theoretical studies involving in silico molecular docking simulation of the major compounds against Novobiocin-resistant mutant of DNA Gyrase-B. *Microbial Pathogenesis*, *183*, 106280.

Gharib, R., Najjar, A., Auezova, L., Charcosset, C., & Greige-Gerges, H. (2017). Interaction of selected phenylpropenes with dipalmitoylphosphatidylcholine membrane and their relevance to antibacterial activity. *The Journal of Membrane Biology*, *250*(3), 259-271. https://doi.org/10.1007/s00232-017-9957-y

Gomes-Carneiro, M. R., Felzenszwalb, I., & Paumgartten, F. J. (1998). Mutagenicity testing of (±)-camphor, 1, 8-cineole, citral, citronellal,(−)-menthol and terpineol with the Salmonella/microsome assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, *416*(1-2), 129-136. https://doi.org/10.1016/s1383-5718(98)00077-1

Goodarzi, R., Yousefimashouf, R., Sedighi, I., Moradi, A., & Taheri, M. (2023). Effect of thymol on antimicrobial susceptibility, and adhesion genes expression of uropathogenic *Escherichia coli* isolated from pediatric urinary tract infection. *Journal of Pediatric Urology*, *19*(5). https://doi.org/10.1016/j.jpurol.2023.07.001

Hosseini, F., Miri, M. A., Najafi, M., Soleimanifard, S., & Aran, M. (2021). Encapsulation of rosemary essential oil in zein by electrospinning technique. *Journal of Food Science*, *86*(9), 4070-4086. https://doi.org/10.1111/1750-3841.15876

Indrotristanto, N., Andarwulan, N., Dewanti-Hariyadi, R., & Fardiaz, D. (2023). Estimating the rejection risk of Indonesian shrimp exports from *Salmonell*a spp. contamination using the food safety objective approach. *Food Control*, 109932. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109932

IRAC, 2011. IRAC susceptibility test methods series: Method 026.

Jafri, H., & Ahmad, I. (2020). *Thymus vulgaris* essential oil and thymol inhibit biofilms and interact synergistically with antifungal drugs against drug resistant strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *Journal de mycologie Medicale*, *30*(1), 100911. https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2019.100911

Jang, M., Kim, J., Yoon, K. A., Lee, S. H., & Park, C. G. (2017). Biological activity of Myrtaceae plant essential oils and their major components against *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Pest management science*, *73*(2), 404-409. https://doi.org/10.1002/ps.4430

Jaouadi, R., Boussaid, M., & Zaouali, Y. (2023). Variation in essential oil composition within and among Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss et Reut.(Lamiaceae) populations: Effect of ecological factors and incidence on antiacetylcholinesterase and antioxidant activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, *106*, 104543. https://doi.org/10.1016/j.bse.2022.104543

Kalemba, D. A. A. K., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, *10*(10), 813-829. https://doi.org/10.2174/0929867033457719

Kotan, R., Kordali, S., & Cakir, A. (2007). Screening of antibacterial activities of twenty-one oxygenated monoterpenes. *Zeitschrift für Naturforschung C*, *62*(7-8), 507-513. https://doi.org/10.1515/znc-2007-7-808

Lakhdari, A., Sakhri, L., Khane, Y., Lakhdar, A. M., Kemassi, A., & Bouras, N. (2020). Evaluation of drying effect on the composition of the essential oil isolated from aerial parts of *Pituranthos chloranthus* from southern Algeria and their biological activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *30*, 101844. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101844

Liu, T., Kang, J., & Liu, L. (2021). Thymol as a critical component of *Thymus vulgaris* L. essential oil combats *Pseudomonas aeruginosa* by intercalating DNA and inactivating biofilm. *LWT - Food Science and Technology*, *136*, 110354. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110354

Majeed, A., Guleria, S., Sharma, N., Salaria, K. H., Aiman, F., Singh, B., & Gupta, V. K. (2023). Antioxidant capacity and combinatorial antimicrobial effects of *Nardostachys jatamansi* essential oil with conventional antibiotics against some drug resistant bacteria. *Current Research in Biotechnology*, *5*, 100118. https://doi.org/10.1016/j.crbiot.2022.100118

Mendonça, L. D. P., Oliveira, E. E., Andreazza, F., Rezende, S. M., Faroni, L. R. D. A., Guedes, R. N. C., & Haddi, K. (2019). Host potential and adaptive responses of Drosophila suzukii (Diptera: Drosophilidae) to Barbados Cherries. *Journal of Economic Entomology*,*112*(6), 3002-3006. https://doi.org/10.1093/jee/toz195

Nesterkina, M., Bilokon, S., Alieksieieva, T., Kravchenko, I., & Hirsch, A. K. (2023). Genotoxic and mutational potential of monocyclic terpenoids (carvacrol, carvone and thymol) in *Drosophila melanogaster*. *Toxicology Reports*, *10*, 327-333. https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2023.02.009

Nogueira, J. O. E., Campolina, G. A., Batista, L. R., Alves, E., Caetano, A. R. S., Brandão, R. M., Nelson, D. L., & Cardoso, M. G. (2021). Mechanism of action of various terpenes and phenylpropanoids against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiology Letters*, *368*(9), fnab052. https://doi.org/10.1093/femsle/fnab052

Oliveira, M., Brugnera, D.F., Alves E., Cardoso, M. G., & Picoli, R. H. (2017). Morphological alterations in sessile cells of *Listeria monocytogenes* after treatment with *Cymbopogon* sp. essential oils. Magistra. 2017; 26:385-392.

Orhan-Yanıkan, E., Gülseren, G., & Ayhan, K. (2022). Antimicrobial characteristics of *Thymus vulgaris* and *Rosa damascena* oils against some milk-borne bacteria. *Microchemical Journal*, 1*83*, 108069. https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.108069

Orlo, E., Nerín, C., Lavorgna, M., Wrona, M., Russo, C., Stanzione, M., Nugnes, R., & Isidori, M. (2023). Antioxidant activity of coatings containing eugenol for flexible aluminium foils to preserve food shelf-life. *Food Packaging and Shelf Life*, *39*, 101145. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101145

Oualdi, I., Elfazazi, K., Azzouzi, H., Oussaid, A., & Touzani, R. (2023). Chemical composition and antimicrobial properties of Moroccan Mentha pulegium L. essential oil. *Materials Today: Proceedings*, *72*, 3768-3774. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.09.318 2214-7853

Pagnossa, J. P., Rocchetti, G., de Abreu Martins, H. H., Bezerra, J. D. P., Batiha, G. E. S., El-Masry, E. A., Cocconcelli, P. S., Santos, C. Lucini. L., & Piccoli, R. H. (2021). Morphological and metabolomics impact of sublethal doses of natural compounds and its nanoemulsions in *Bacillus cereus*. *Food Research International*, *149*, 110658. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110658

Pan, Z., Liu, S., Chen, Y. C., Wang, Y. D., Gu, Q., & Song, D. (2022). As natural phytocide: Biomarker assessment of *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon essential oil against *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae.). *Industrial Crops and Products*, *187*, 115421. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115421

Park, C. G., Jang, M., Shin, E., & Kim, J. (2017). Myrtaceae plant essential oils and their β-triketone components as insecticides against *Drosophila suzukii*. *Molecules*, *22*(7), 1050. https://doi.org/10.3390/molecules22071050

Paudel, S. K., Bhargava, K., & Kotturi, H. (2019). Antimicrobial activity of cinnamon oil nanoemulsion against *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. on melons. *LWT - Food Science and Technology, 111*, 682-687. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.087

Pimentel, F. A., Cardoso, M. G., Salgado, A. P. S., Aguiar, P. M., Silva, V. D. F., Morais, A. R. D., &Nelson, D. L. (2006) A convenient method for the determination of moisture in aromatic plants. *Quimica Nova, 29*, 373–375. https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000200031

Pineda, M., Alves, E. L. D. A., Antunes, J. A., Carvalho, V. D. C., & Haddi, K. (2023). Low concentrations of eucalyptus essential oil induce age, sex, and mating status-dependent stimulatory responses in *Drosophila suzukii*. *Agriculture*, *13*(2), 404. https://doi.org/10.3390/agriculture13020404

Radünz, M., dos Santos Hackbart, H. C., Camargo, T. M., Nunes, C. F. P., de Barros, F. A. P., Dal Magro, J., Filho, P. J. S., Gandra, E. A., Radünz, A. L., & da Rosa Zavareze, E. (2020). Antimicrobial potential of spray drying encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil on the conservation of hamburger-like meat products. *International Journal of Food Microbiology*, *330*, 108696. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108696

Rezende, D. A. D. C. S., Oliveira, C. D., Batista, L. R., Ferreira, V. R. F., Brandão, R. M., Caetano, A. R. S., Alves, M. V. P., & Cardoso, M. G. (2022). Bactericidal and antioxidant effects of essential oils from *Satureja montana* L., *Myristica fragrans* H. and *Cymbopogon flexuosus*. *Letters in Applied Microbiology*, *74*(5), 741-751. https://doi.org/10.1111/lam.13659

Ricci, A., Martelli, F., Alinovi, M., Garofalo, A., Perna, G., Neviani, E., Mucchetti, G., & Bernini, V. (2022). Behaviour and adhesion capacity of *Listeria monocytogenes* on Mozzarella di Bufala Campana PDO cheese and in fluids involved in the production process. *Food Control*, 140, 109110. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109110

Rioba, N. B., Itulya, F. M., Saidi, M., Dudai, N., & Bernstein, N. (2015). Effects of nitrogen, phosphorus and irrigation frequency on essential oil content and composition of sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, *2*(1), 21-29. https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2015.01.003

Robertson, J., Jones, M., Olguin, E., & Alberts, B., 2017. Bioassays with arthropods, third edition, Bioassays with Arthropods, Third Edition.

Sharma, K., Munjal, M., Sharma, R. K., & Sharma, M. (2023). Thymol encapsulated chitosan-Aloe vera films for antimicrobial infection. *International Journal of Biological Macromolecules*, *235*, 123897. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123897

Silva, C. G., Yudice, E. D. C., Campini, P. A. L., & Rosa, D. S. (2021). The performance evaluation of Eugenol and Linalool microencapsulated by PLA on their activities against pathogenic bacteria. *Materials Today Chemistry*, *21*, 100493. https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2021.100493

Teixeira, M. L., Cardoso, M. G., Ferreira, V. R. F., Campolina, G. A., Caetano, A. R. S., Oliveira, C. D., Alves, M. V. P., & Nelson, D. L. (2023). Evaluation of the antioxidant activity of the essential oils from *Cantinoa carpinifolia* (Benth.) and *Lippia origanoides* (Kunth.) by various methods. *Journal of Essential Oil Research*, 1-11. https://doi.org/10.4236/ajps.2014.59131

Temerdashev, Z. A., Milevskaya, V. V., Ryabokon, L. P., Latin, N. N., Kiseleva, N. V., & Nagalevskii, M. V. (2020). Identification and Determination of the Components of Garden Sage (*Salvia officinalis* L.) Essential Oil, Isolated by Different Extraction Methods. *Journal of Analytical Chemistry*, *75*(11), 1451-1460. https://doi.org/10.1134/S1061934820110131

Turgis, M., Han, J., Caillet, S., & Lacroix, M. (2009). Antimicrobial activity of mustard essential oil against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhi*. *Food Control*, *20*(12), 1073-1079. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.02.001

Ulusoy, B. H., & Chirkena, K. (2019). Two perspectives of *Listeria monocytogenes* hazards in dairy products: the prevalence and the antibiotic resistance. *Food Quality and Safety*, *3*(4), 233-241. https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyz035

Van Den Dool, H., & Kratz, P. D. (1963) A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography A* ,*11*, 463–471. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)80947-X

Wang, K., Wang, Y., Wu, Y., Jiang, J., Zhang, Y., Yu, N., & Liu, Z. (2023). A novel dual stimuli-responsive and double-loaded insecticidal nanoformulation for efficient control of insect pest. *Chemical Engineering Journal*, 146012. https://doi.org/10.1016/j.cej.2023.146012

Wang, Q., Xu, P., Sanchez, S., Duran, P., Andreazza, F., Isaacs, R., & Dong, K. (2021). Behavioral and physiological responses of *Drosophila melanogaster* and *D. suzukii* to volatiles from plant essential oils. *Pest management science*, *77*(8), 3698-3705. https://doi.org/10.1002/ps.6282

Wu, M., Dong, Q., Ma, Y., Yang, S., Aslam, M. Z., Liu, Y., & Li, Z. (2022). Potential antimicrobial activities of probiotics and their derivatives against *Listeria monocytogenes* in food field: A review. *Food Research International*, 111733. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111733

Zanotto, A. W., Kanemaru, M. Y. S., de Souza, F. G., Duarte, M. C. T., de Andrade, C. J., & Pastore, G. M. (2023). Enhanced antimicrobial and antioxidant capacity of *Thymus vulgaris*, *Lippia sidoides*, and *Cymbopogon citratus* emulsions when combined with mannosylerythritol a lipid biosurfactant. *Food Research International*, *163*, 112213. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112213

ARTIGO 2 - Desenvolvimento e caracterização de filmes de pectina incorporados com nanoemulsões de óleo essencial de *Thymus vulgaris* para preservação de salaminhos

Artigo escrito de acordo com as normas da NBR 6022 da ABNT

Autores: Cassia Duarte Oliveira[a], Maria das Graças Cardoso[b*], Luciano de Souza[b], Sofia Lara Silva Vieira[b], Geraldo de Sousa Candido[b], Bruna Fernandes Andrade[a], Eduardo Alves[c], David Lee Nelson[d], Juliano Elvis de Oliveira[e], Eduardo Mendes Ramos[a]

[a]Department Food Science, Federal University of Lavras, Lavras 37200-000, MG, Brazil.

[b]Department of Chemistry, Federal University of Lavras, Lavras 37200-000, MG, Brazil.

[c]Department of Plant Pathology, Federal University of Lavras, Lavras 37200-000, MG, Brazil.

[d]Postgraduate Program in Biofuels, Federal University of the Jequitinhonha and Mucuri Valleys, Diamantina 39803-371, MG, Brazil.

[e]Department of Engineering, Federal University of Lavras, Lavras 37200-000, MG, Brazil.

[*]Corresponding author: mcardoso@ufla.br; Full postal address: 3037

RESUMO

A oxidação lipídica é uma das principais responsáveis pela perda da qualidade de produtos cárneos fermentados. Emulsões de óleo essencial de *T. vulgaris* foram preparadas utilizando os surfactantes Pluronic F127 e Tween 80, por meio das técnicas de agitação mecânica e sonicação de ponta ultrassônica, e os tamanhos de partículas e potencial zeta foram avaliados. Essas emulsões foram incorporadas aos filmes de pectina, os quais foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura, análise antioxidante, análise termogravimétrica e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier. Os salaminhos em que foram aplicados os filmes de pectina contendo óleo essencial de *T. vulgaris* apresentaram menor teor de aldeídos oxidativos, mostrando que esses filmes ativos, independentemente do surfactante usado, foram capazes de preservar a qualidade. Dessa forma, a embalagem ativa desenvolvida tem potencial de prolongar a vida útil de alimentos susceptíveis à oxidação lipídica, podendo ser uma alternativa promissora para minimizar efeitos ambientais adversos.

Palavras-chave: Óleo essencial. *Thymus vulgaris*. Embalagem ativa. Oxidação**.** Vida útil.

1 INTRODUÇÃO

A oxidação lipídica em alimentos está diretamente relacionada com a perda da qualidade dos produtos devido à formação de odor e sabor desagradáveis, redução do valor nutricional e alterações na textura e cor de alimentos, como produtos cárneos, manteiga e nozes, tomando-os inaceitáveis pelos consumidores. O salame é um produto derivado de carne, cuja vida útil está diretamente ligada à oxidação lipídica. Durante seu processo de fabricação, a carne moída pode expor substratos lipídicos suscetíveis à oxidação, devido a fatores pró-oxidantes, como oxigênio, luz e temperatura. A ocorrência da oxidação lipídica durante o processamento e o armazenamento do salame pode comprometer seu valor nutricional, diminuindo o teor de ácidos graxos poli-insaturados e vitaminas, além de produzir aldeídos e cetonas, que conferem sabores indesejados, ou outros derivados de ácidos graxos poli-insaturados potencialmente tóxicos à saúde (BOLLETTA *et al*., 2024; CANDIDO *et al*., 2022; LIU *et al*., 2023).

Uma alternativa para evitar esse problema é o uso de embalagens ativas com óleo essencial como antioxidante, pois essas embalagens são capazes de interagir com os alimentos e liberar os constituintes dos óleos essenciais capazes de estabilizar espécies químicas reativas, como os radicais livres presentes no meio, retardando a oxidação lipídica (BRANDÃO *et al*., 2023; CANDIDO et al., 2022). Os óleos essenciais são produtos naturais considerados agentes antioxidantes eficazes reconhecidos como seguros (GRAS) pela Food and Drug Administration (FDA). A Comissão Europeia reconhece alguns constituintes presentes nos óleos essenciais como substâncias permitidas para serem utilizadas como aromatizantes alimentares e, entre esses, citam-se linalol, timol, eugenol, carvona, cinamaldeído, carvacrol, citral e limoneno (ALMASI *et al*., 2020; BRANDÃO *et al*., 2023). O óleo essencial de *T. vulgaris* é conhecido por suas atividades antimicrobianas e antioxidantes, sendo composto principalmente por timol e carvacrol, compostos fenólicos que conferem essas atividades biológicas (EL-SAYED; EL-SAYED, 2021).

No entanto, a incorporação direta dos óleos essenciais aos alimentos tem algumas limitações, pois são altamente voláteis e sensíveis à luz, oxigênio e altas temperaturas. A nanoemulsificação do óleo essencial melhora a solubilidade em água, a estabilidade térmica, a propriedade de liberação controlada, a atividade antioxidante, bem como aumenta a vida útil dos produtos alimentícios. Além disso, diminui o impacto negativo

na aceitação sensorial dos alimentos. (ACHARYA *et al*., 2024). As nanoemulsões são consideradas suspensões formadas por uma mistura de duas fases imiscíveis, óleo em água, estabilizadas por um surfactante, que possui a capacidade de aumentar a solubilidade de compostos hidrofóficos em água (PANWAR *et al*., 2024). O tipo e a concentração do surfactante desempenham um papel crucial na estabilidade das partículas, na cinética, no perfil de liberação e na eficiência de encapsulação (SHKODRA-PULA *et al*., 2019.). Destacam-se os surfactantes não iônicos Tween 80 (monooleato de polioxietileno-20-sorbitano) e Pluronic F127 (copolímero tribloco anfipático de poli(óxido de etileno) e poli(óxido de propileno)) (ABOUD *et al*., 2020; SHALABY *et al*., 2021; ZAKI *et al*., 2022).

Assim, o aprisionamento da nanoemulsão de óleo essencial nos materiais de filme auxilia na estabilidade e propriedade de liberação do filme (ACHARYA *et al*., 2024; CHU *et al*., 2020, MEHRAIE *et al*., 2023). Os filmes à base de pectina têm sido estudados devido à boa capacidade de barreira a gases e biodegradabilidade. A pectina é um polissacarídeo biodegradável encontrado nas paredes celulares e regiões intercelulares de plantas e frutos. Esse polissacarídeo é amplamente encontrado em frutos cítricos, cana-de-açúcar e resíduos de processamento de alimentos. É composto por cadeias helicoidais de poli [α- (1 → 4) – ácido D-galacturônico] ou homogalacturonan, considerado atóxico, amorfo e solúvel em água, possuindo excelente capacidade filmogênica e potencial aplicação em embalagens ativas (ALMASI *et al*., 2020; CANDIDO *et al*., 2022; NISAR *et al*., 2018).

Até o momento, pesquisas foram realizadas para avaliar o efeito de diferentes nanoemulsões de óleos essenciais incorporadas em filmes de pectina para entender a vida útil de alimentos (ABDALLA *et al*., 2023; ELSHREIF *et al*., 2024; FALLAH *et al*., 2022).). No entanto, não foi realizado um estudo mais minucioso sobre a utilização de nanoemulsão de óleo essencial de *T. vulgaris* incorporado em filmes de pectina empregado no armazenamento de salaminhos fatiados.

Objetivou-se neste estudo desenvolver filmes de pectina incorporados com nanoemulsões de óleo essencial de *T. vulgaris*, utilizando diferentes surfactantes; realizar a aplicação desses filmes e avaliar sua eficiência durante o armazenamento de salaminhos fatiados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material vegetal e extração de óleo essencial

O óleo essencial de *Thymus vulgaris* foi extraído de folhas secas obtidas no Mercado Central de Belo Horizonte, MG, Brasil. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado, por um período de 2 h (BRASL, 2010a). O hidrolato foi centrifugado (Fanem Baby I Modelo 206 BL, São Paulo, Brasil) a 965,36 *g* por 15 min, e o óleo essencial foi coletado com micropipeta de Pasteur e armazenado em frascos âmbar sob refrigeração. O rendimento do óleo essencial de *T. vulgaris* foi de 0,44% (p/p), calculado com base no peso seco.

2.2 Análise de GC-MS e GC-FID

Na identificação dos constituintes presentes no óleo essencial de *T. vulgaris*, utilizou-se o cromatógrafo a gás (Shimadzu Corporation; modelo QP2010 Plus, Kyoto, Japão) acoplado ao espectrômetro de massas (GC-MS) (ADAMS, 2017), equipado com uma coluna capilar de sílica fundida (30 m x 0,25 mm) com fase ligada a DB5 (0,25 µm de espessura). O hélio foi utilizado como gás de arraste (White Martins, Rio de Janeiro, Brasil) a um fluxo de 1,0 mL min^{-1}, e as temperaturas do injetor e do detector foram de 220 °C e 240 °C, respectivamente. A temperatura inicial foi de 60 °C, seguida de um aumento de 3 °C min^{-1} até 240 °C. Houve aumento a 10 °C min^{-1} até chegar a 300 °C, a qual permaneceu constante por 7 min. Injetou-se 0,5 µL da amostra diluída em hexano (1:100) (Sigma-Aldrich®, St. Louis, MO, EUA). O MS foi operado utilizando os parâmetros: potencial de ionização (70 eV), temperatura da fonte de íons (200 °C), velocidade de varredura de 1000 Da s^{-1}e intervalo de varredura de 0,50 fragmentos s^{-1}. As análises foram realizadas no modo *full scan*, variando de 45 a 500 Da. Os dados sobre os constituintes químicos dos óleos essenciais foram obtidos no LabSolutions LC/GC Workstation 2,72. Calcularam-se os índices de retenção por meio da equação de Van den Dool e Kratz (1963), usando os padrões da série homóloga de n-alcanos (nC8-nC18), que foram comparados com os da literatura (ADAMS, 2017) para a identificação dos compostos. Também foram usadas as bibliotecas de espectros de massa FFNSC 1.2, NIST 107 e NIST 21 para comparar os dados espectrais dos constituintes dos óleos essenciais com similaridade superior a 95%. A quantificação dos constituintes dos óleos essenciais foi realizada por cromatografia gasosa usando um detector de ionização de chama (FID) (Shimadzu GC-2010; Kyoto, Japão). As condições de operação foram as mesmas

utilizadas na análise qualitativa, exceto a temperatura do detector (300 °C). As porcentagens de constituintes dos óleos essenciais foram calculadas pelo método de normalização de área.

2.3 Preparo e caracterização das emulsões

As soluções foram preparadas de acordo com Candido *et al*. (2022), com algumas modificações. As emulsões de óleo em água (O/A) foram preparadas adicionando o óleo essencial a 1,0 %, Tween 80 (Synth, Brasil) ou Pluronic F127 (Sigma Aldrich, Germany), na proporção de 1:1 (p/p) de óleo essencial em água deionizada. Em seguida, todas as amostras compostas pelas fases oleosa e aquosa foram misturadas por meio de agitação mecânica (Ultraturrax; IKA T10, EUA) a 14,500 rpm por 10 minutos em temperatura ambiente para obter a emulsão inicial. Após a agitação mecânica, as emulsões preparadas com Tween 80 (Emulsão_Tw) e com Pluronic F127 (Emulsão_Pl) foram submetidas à sonificação (Emulsão_sonificada_Tw e Emulsão_sonificada_Pl) por meio da utilização de um sonicador de ponta ultrassônica **(**Ultronique; Desruptor, Indaiatuba, São Paulo, Brasil) operando a 1250 W (50% de amplitude). A sonda do aparelho usado, 4 mm de diâmetro, foi imersa na emulsão a uma profundidade de 25 mm e realizou-se a nanoemulsificação por 30 min (três ciclos de 10 min), sendo usado o banho de gelo. As emulsões (Emulsão_Tw e Emulsão_Pl) e as emulsões sonificadas (Emulsão_sonificada_Tw e Emulsão_sonificada_Pl) obtidas foram armazenadas em frascos âmbar sob refrigeração.

Após o preparo das emulsões sonificadas e não sonificadas, avaliou-se o tamanho médio das partículas formadas por meio de espalhamento dinâmico de luz (EDL). As estabilidades foram determinadas por meio dos potenciais zeta. As medições de distribuição de tamanho de partícula e potencial zeta foram realizadas utilizando um analisador de partículas Beckman Coulter DelsaNano C (Beckman Coulter, Indianapolis, EUA) (CARVALHO *et al*., 2021).

2.4 Produção dos filmes ativos

Para a produção dos filmes ativos, dissolveu-se a pectina (3%) nas emulsões sonificadas e não sonificadas previamente preparadas, homogeneizando-se

completamente, utilizando agitador magnético por 5 h. Após a completa dissolução da pectina, adicionou-se o glicerol (Merk, Germany, >99,5% pure) 40% (p/p) (base seca), agitando-se por mais 1 h. Posteriormente, 38 mL das formulações de pectina sem óleo essencial (PEC) e pectina com as emulsões sonificadas e não sonificadas foram transferidos para placas de Petri (15 cm de diâmetro). As amostras foram secas em estufa de circulação de ar a 37 ºC por 24 horas. Os filmes produzidos com as emulsões não sonificadas (Tw e Pl) e sonificadas (STw e SPl) foram removidos das placas e caracterizados.

2.4.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Eletromicrografias da sessão transversal dos filmes foram obtidas utilizando Microscópio Eletrônico de Varredura (SEM; model EVO 040, Carl Zeiss, Germany). Para isso, as amostras foram fraturadas por congelamento em banho de nitrogênio líquido (-165 °C por 3 min). As amostras dos filmes de pectina (PEC, Tw, Pl, STw e SPl) e do filme comercial (PVC) foram coladas em *stubs* de metal com fita adesiva dupla-face de carbono e, em seguida, revestidas por *sputter* em ouro (Baltec, modelo SCD 050, Balzers, AG, Liechtenstein) (CANDIDO *et al*., 2022). O diâmetro dos poros foi avaliado utilizando o software ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, MD, EUA). Os valores médios e o desvio padrão dos diâmetros foram obtidos pela análise de 100 poros selecionadas aleatoriamente

2.4.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros no infravermelho dos filmes foram obtidos com um espectrômetro de infravermelho médio por transformada de Fourier (FTIR; Vertex 70, Bruker, Alemanha). As amostras foram analisadas pela técnica de reflectância atenuada (ATR) com cristal de diamante de reflexão única. Para cada espectro, 64 ensaios consecutivos foram registrados em uma resolução de 4 cm^{-1} na faixa espectral de 4000 a 500 cm^{-1} (NORCINO *et al*., 2020).

2.4.3 Análise térmica

Os perfis de degradação térmica das amostras (5-8 mg) foram obtidos em um TGA Q500 (TA Instruments) de 25 a 600 ºC a 10 ºC min^{-1}, em atmosfera de ar sintético (21% O_2) fluindo a 40 mL min^{-1} (Norcino *et al*., 2020).

2.4.4 Avaliação da migração do óleo essencial dos filmes em simulador de alimento gorduroso

Inicialmente, os filmes pré-pesados foram cortados em tiras com comprimento e largura de 1,5 cm x 1,5 cm e adicionados a tubos de centrífuga de 50 mL, ficando totalmente imersos com 20 mL de simulador de alimentos gordurosos (solução etanólica a 95% (v/v)) a 5 ºC por 10 dias (BRASIL, 2010b; KEVIJ *et al*., 2020; MUGWAGWA; CHIMPHANGO, 2020). As tiras de filmes foram retiradas dos simuladores após os tempos de contato definidos (1, 4, 24, 168 e 240 horas).

Após o contato dos filmes com o simulador de alimentos gordurosos, as soluções etanólicas a 95% (v/v) foram avaliadas quanto à atividade antioxidante pelo ensaio de estabilização do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), que foi realizado de acordo com Ahmed *et al*. (2022) e Candido *et al*. (2022), com algumas modificações. Nos intervalos de tempo definidos, 500 µL das amostras (soluções etanólicas) foram retiradas e adicionadas a 2000 µL de solução metanólica de DPPH (0,06 mM). As amostras foram acondicionadas ao abrigo de luz por 60 min e, em seguida, as absorbâncias foram medidas a 515 nm (Genesys 10 UV; Thermo Scientific Varian, São Paulo, Brasil). As análises foram realizadas em triplicata e os resultados da liberação de antioxidantes em relação à eliminação do radical DPPH foram calculados pela Equação (1).

$$\%AA = 100\ x\ \left[1\ -\ \left(\frac{A_{sample}}{A_{control}}\right)\right] \quad (1)$$

Em que A_{sample} é a absorbância da amostra e $A_{control}$ é a absorbância da solução DPPH sem a amostra.

2.5 Avaliação dos filmes ativos na preservação de salaminhos

A eficiência dos filmes como antioxidantes foi investigada durante o armazenamento de salaminhos fatiados, em condições aceleradas (não sendo embalados

a vácuo e armazenados a 7 ºC). Os salaminhos foram adquiridos em peça única (500 g) no mercado local de Lavras, MG – Brasil. Após a remoção do revestimento, os salaminhos foram fatiados em cortador de frios lâmina (BM 96 NR PF; Bermar, São Paulo, Brasil) em espessura de 2,2 mm, sendo quatro fatias (~3,2 cm de diâmetro) dispostas em bandejas de politereftalato de etila (PET) e poliestireno (PS). As amostras dos filmes PEC, STw e SPl foram dispostas sobre os salaminhos e todas as bandejas de todos os tratamentos foram envolvidos com PVC (policloreto de vinila; marca Boreda), altamente permeável ao oxigênio, sendo o tratamento-controle considerado aquele nos quais os salaminhos foram envolvidos apenas com o filme PVC. As amostras foram armazenadas em câmara alimentícia (EL202/4; Eletrolab, São Paulo, Brasil), com temperatura de 7 ºC, por 14 dias. A cor instrumental e a identificação de compostos orgânicos voláteis (VOCs) foram monitoradas durante 0, 2, 4, 7, 9, 11 e 14 dias, sendo o dia do fatiamento e embalagem dos salaminhos considerado o dia 0.

2.5.1Avaliação da cor instrumental

Os salaminhos foram acomodados sobre bandejas brancas de isopor, e a cor foi avaliada utilizando o colorímetro portátil CM-700 (Kônica Minolta Sensing Inc., Osaka, Japão) com abertura de porta de 8 mm, iluminante D65, ângulo de observação de 10° e componente especular excluído (SCE). Foram realizadas leituras da superfície das amostras, sendo registrados o espectro de refletância (360-740 nm) e os índices de cor obtidos no sistema CIELCH: luminosidade (L^*), croma (C^*) e ângulo de tonalidade (h, graus). O índice de cor curada foi determinado utilizando a razão de refletância dos comprimentos de onda R650/570 nm (KING *et al*., 2023).

2.5.2 Identificação dos VOCs e quantificação do hexanal

A análise de separação e identificação dos VOCs foi realizada durante 14 dias, utilizando o cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (GC/MS, modelo QP2010 Plus; Shimadzu®, kyoto, Japão), equipado com sensor automático, injetor para líquidos e gases (AOC-5000; Shimadzu®, kyoto, Japão) e uma coluna capilar SLB®-5MS (5% fenil - 95% dimetilsiloxano; 30 m × 0,25 mm d.i., espessura de filme de 0,25 μm; Supelco, Bellefonte, PA, EUA), seguindo a metodologia descrita por Andrade *et al*. (2024), com algumas modificações.

Na extração dos VOCs, porções das três réplicas de cada tratamento foram trituradas simultaneamente para obter uma amostra agrupada para a análise. Cerca de 2,5 g das amostras reunidas (em duplicata) foram pesadas em *vial* de 22 mL, seladas com um septo de silicone revestido com PTFE (Supelco, Bellefonte, PA, EUA). Os VOCs foram extraídos por microextração headspace-fase sólida (HS-SPME), em fibra DVB/CAR/PDMS (Divinilbenzeno/Carboxen/Polidimetilsiloxano, 10 mm de comprimento, camada de 50-30µm de espessura; Supelco Bellefonte, PA, EUA), previamente limpa a 250 °C por 5 min. Os *vials* foram pré-aquecidos por 10 min a 60 °C em um bloco de aquecimento e, então, a fibra SPME foi exposta no headspace por 45 min para extração dos compostos voláteis, posteriormente injetada em injetor automático para líquidos e gases (AOC-5000; Shimadzu, Japan) operando em modo *splitless,* em temperatura de 250 °C, com exposição programada de 5 minutos para completa dessorção. O hélio (He) foi utilizado como gás de arraste em fluxo de 1,0 mL min^{-1}. A temperatura elevada do forno foi usada para melhorar a separação de voláteis. O forno foi programado com uma rampa de temperatura, iniciando com a temperatura do forno de 35 °C, mantida por 2 min. Depois disso, a temperatura do forno foi aumentada em 2 °C min^{-1} até 80 °C, em 4 °C min^{-1} até 150 °C e de 150 °C a 230 °C a uma taxa de 8 °C min^{-1}.

A detecção dos VOCs foi realizada por espectrometria de massas por impacto de elétrons (70 eV) no modo scan (45 a 350 Da), com um corte de solvente em 0,55 min. A temperatura da interface do detector e da fonte de íons permaneceu em 250 °C e 200 °C, respectivamente. A identificação dos voláteis foi realizada comparando os dados espectrais de massa das amostras com os espectros de massas fornecidos pelo banco de dados do *software* (Wiley 8 e FFNSC 1.2) com até 95 % de similaridade e confirmados pelos índices de retenção, calculados pela equação de Van Den Dool e Kratz (1963) em relação à série homóloga de alcanos (nC8- nC18), com extrapolação para C19 e C20. Os índices de retenção calculados foram comparados com os índices de retenção da literatura, segundo Adams (2017). A área de cada pico foi integrada usando o software GCMS Solutions (Shimadzu®), e os dados apresentados como contagens totais de íons. Na quantificação do hexanal (ng g^{-1}), uma curva analítica foi preparada em água (0,004 a 0,1630 µg mL^{-1}) e analisada nas mesmas condições de identificação dos VOCs.

2.6 Análise estatística

Os dados de diâmetro dos poros foram submetidos a um delineamento inteiramente casualizado, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey com nível de significância de 5% ($P \leq 0,05$) utilizando o software Sisvar (FERREIRA, 2011).

Para os dados de atividade antioxidante dos filmes, foram aplicados o planejamento fatorial 2 (tipos de emulsão (sonificada e não sonificada)) x 2 (tipos de surfactante) x 5 (dias de armazenamento), considerando três repetições. Os principais fatores e suas interações foram testados por meio de análise de variância (ANOVA). Quando significativo ($P \leq 0,05$), as médias foram separadas pelo teste de Tukey, utilizando o software Statistica® 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA).

Para análises de cor e quantificação do hexanal nos salaminhos, os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 4 (tipos de filmes) × 7 (dias de armazenamento), com 12 repetições para cor instrumental e 2 repetições para voláteis. Os principais fatores e suas interações foram testados por meio de análise de variância bidirecional (ANOVA). Quando significativo ($P \leq 0,05$), as médias foram separadas pelo teste de Tukey. Para explorar as relações entre compostos voláteis dentro dos tratamentos (tipo de filme x dias de armazenamento), foi realizada uma análise de componentes principais (PCA). Os dados de cor também foram avaliados na PCA. A análise estatística foi realizada utilizando o software Statistica® 8.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, EUA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Composição química do óleo essencial

A composição química do óleo essencial de *Thymus vulgaris* é apresentado na Tabela 1. O timol foi o principal composto, seguido por *ρ*-cimeno e carvacrol.

Tabela 1 – Composição química do óleo essencial de *Thymus vulgaris.*

Peak	**Compound**	**RT (min)**	**RI_{ref}**	**RI_{cal}**	**Area (%)**
1	α-Pinene	6.405	932	933	0.61
2	Camphene	6.958	946	950	0.33
3	α-Terpinene	9.007	1014	1017	0.39
4	***ρ*-Cymene**	9.354	**1020**	**1025**	**22.83**
5	Limonene	9.533	1024	1029	0.28
6	1,8-Cineole	9.664	1026	1032	0.82
7	γ-Terpinene	10.613	1054	1057	1.19
8	Linalool	12.211	1095	1099	2.39
9	Borneol	15.351	1165	1172	1.50
10	Terpinen-4-ol	15.704	1174	1180	1.02
11	(*E*)-Anethole	20.211	1282	1287	1.33
12	**Thymol**	20.464	**1289**	**1293**	**62.67**
13	**Carvacrol**	**20.781**	**1298**	**1300**	**4.64**
Composition					
	Monoterpene hydrocarbons				25.63
	Sesquiterpene hydrocarbons				0.00
	Oxygenated monoterpenes				74.37
	Oxygenated Sysquiterpenes				0.00
	Other				0.00
	Total identified (%)				100.00

RT: Retention time; RI_{ref}: Reference retention index (ADAMS, 2017); RI_{cal}: Calculated retention index.

Fonte: Do autor (2024).

Semelhantemente ao presente estudo, Zanotto *et al* (2023) observaram como constituinte majoritário, no óleo essencial de *T. vulgaris,* o timol (45,95%), seguido por *ρ*-cimeno (25,11%). Esses resultados também estão de acordo com estudos realizados anteriormente por El-Sayed e El-Sayed (2021), que examinaram a composição química do óleo essencial de *T. vulgaris* e relataram que timol, *ρ*-cimeno e γ-terpineno foram compostos principais no óleo essencial de *T. vulgaris*. Gobbo-Neto e Lopes (2007) e Brandão *et al* (2023) citam que o genótipo, regiões de cultivo, partes das plantas, tipo de solo, intensidade de luz, concentração de CO_2 atmosférico, temperatura e umidade relativa podem influenciar na produção de um ou outro constituinte nas plantas.

Além disso, Lukic, Vulic e Ivanovic (2020) demonstraram que os compostos como timol e carvacrol possuem boa capacidade antioxidante e antimicrobiana. De acordo com Xu *et al*. (2023), ambos são aprovados quanto à segurança pela Food and Drug Administration (USFDA) dos EUA para uso em alimentos, podendo ser considerados eficientes para a conservação de alimentos. Portanto, o óleo essencial em estudo vem sendo utilizado como um bom agente antioxidante na indústria alimentícia.

3.2 Caracterização das emulsões

O tamanho médio de partícula e o potencial zeta das emulsões do óleo essencial de *T. vulgaris* são mostradas na Tabela 2. Em relação ao diâmetro médio, todas as amostras podem ser classificadas como nanoemulsões, pois os tamanhos das gotículas de óleo estão entre 1 e 100 nm (PANDEY *et al*., 2023).

As emulsões sonificadas que foram preparadas com Pluronic F127 revelaram menor tamanho da gota, quando comparadas com as emulsões não sonificadas. Essa diminuição do tamanho das gotas ocorre devido à elevada energia, associada ao ultrassom e às interações entre surfactantes, óleo e água, que criam forças deformantes que superam a pressão de Laplace e quebram as gotículas em gotículas menores (NORCINO *et al*., 2020).

Tabela 2 – Tamanho médio de partícula e valores de potencial zeta de emulsões de óleo essencial de *Thymus vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127.

Amostra	Tamanho médio de partícula (nm)	Potencial zeta (mv)
Emulsão_sonificada_Tw	43,4±12,6	36,63
Emulsão_Tw	36,8±10,5	53,05
Emulsão_sonificada_Pl	14,4±4,1	34,90
Emulsão_Pl	21,8±6,2	44,11

Emulsão_sonificada_Tw e Emulsão_sonificada_Pl = emulsões de óleo essencial de *T. vulgaris* produzidas com agitação mecânica e sonicador de ponta ultrassônica, utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente; Emulsão_Tw e Emulsão_Pl = emulsões de óleo essencial de *T. vulgaris* produzidas com agitação mecânica utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente.

Fonte: Do autor (2024).

As emulsões sonificadas que foram preparadas utilizando o surfactante Pluronic F127 apresentaram o tamanho de gota menor, quando comparadas com as emulsões sonificadas que foram preparadas utilizando o Tween 80 como surfactante. De acordo com Chu *et al*. (2020), o surfactante pode melhorar a ruptura das gotículas, reduzindo a resistência dessas gotículas de óleo à deformação, uma vez que possuem a propriedade de reduzir a tensão interfacial entre a fase oleosa e aquosa. Ainda segundo esses autores, outra característica de alguns surfactantes é a capacidade de prevenir processos de instabilidade das nanoemulsões após o tratamento com ultrassom, que pode ser atribuído à rápida adsorção na interface estável recém-formada.

Observou-se menor tamanho das partículas produzidas com Pluronic F127. Isso está relacionado com o valor de equilíbrio hidrofílico-lipofílico (HLB) dos surfactantes, sendo o valor de HLB do Pluronic F127 (HLB=22) maior do que o valor de HLB do Tween 80 (HLB=15) (SHALABY *et al*., 2021). Os resultados deste estudo corroboram com os obtidos por Lian *et al*. (2019) que, ao preparar filmes de quitosana contendo óleo essencial de *T. vulgaris* empregando diferentes surfactantes contendo diferentes HLB, observaram que quanto maior o valor de HLB do surfactante, menor o tamanho das partículas do óleo essencial presente na solução de filme. Além disso, os autores afirmam que emulsões que possuem tamanho de partícula menor normalmente apresentam melhor estabilidade na solução do filme.

O HLB está relacionado com a afinidade do surfactante com o óleo ou com a água. Quanto maiores os valores de HLB, mais forte será a afinidade do surfactante com a água. Normalmente, os surfactantes com maiores HLB são mais adequados para serem utilizados em emulsões de óleo em água. Dessa forma, o valor do equilíbrio hidrofílico-lipofílico também pode influenciar no tamanho de partículas (GEDIKOĞLU; ERÜNSAL, 2023; LIAN *et al*., 2019).

O potencial zeta é um outro fator a ser levado em consideração, uma vez que é importante para avaliar a estabilidade cinética dos sistemas de emulsão. Quando o potencial zeta apresenta valores superiores a 30 mV (em módulo), significa que as forças eletrostáticas repulsivas do sistema superam as forças atrativas, caracterizando um sistema relativamente estável, que não tem tendência a se agregar (CARVALHO *et al*., 2021). Todas as emulsões analisadas possuíam valor de potencial zeta absoluto maior que 30 mV (Tabela 2), indicando baixa tendência de agregação. Isso já foi encontrado em estudos que utilizaram emulsões preparadas com relação surfactante/óleo de 1:1 (CHU *et al*., 2020).

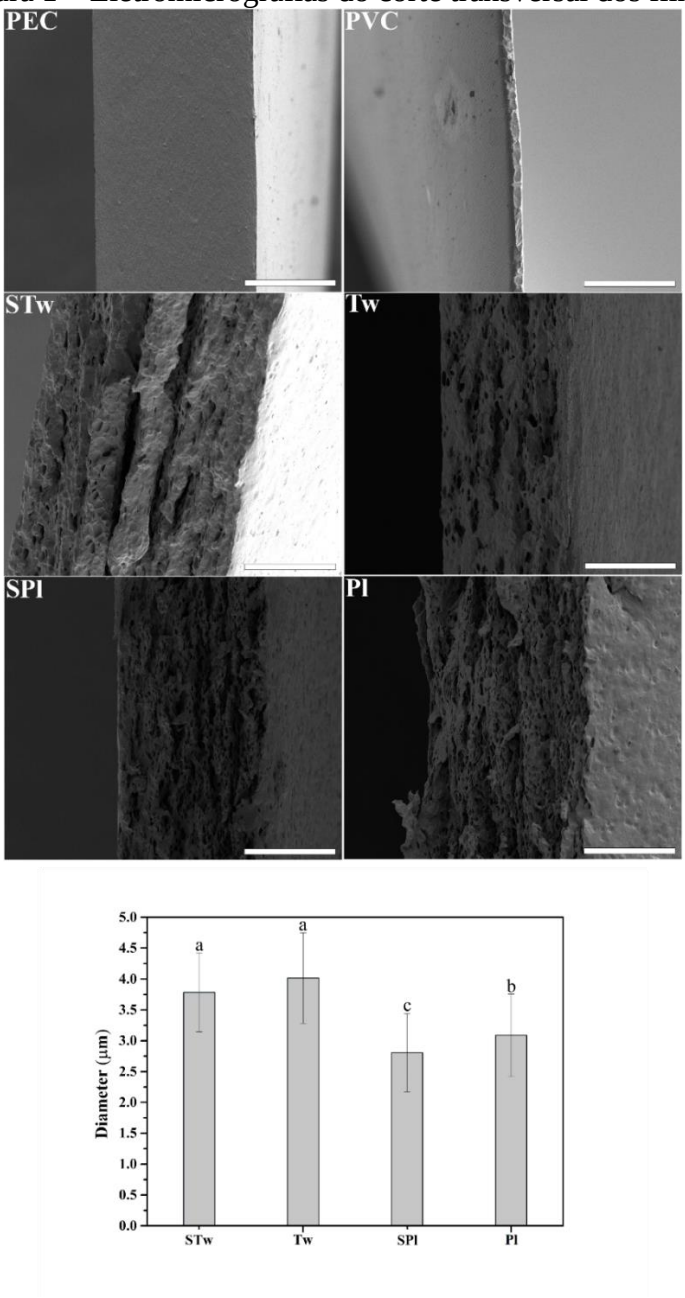
3.3 Caracterização dos filmes ativos

3.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As morfologias da sessão transversal dos filmes PEC, STw, Tw, SPl, Pl e PVC são apresentadas na Figura 1. Observou-se que a microestrutura do filme PEC apresentou uma superfície de fratura criogênica uniforme, lisa, homogênea, contínua e compacta, livre de poros, rachaduras ou trincas. A presença de trincas pode indicar que a

concentração de glicerol não foi suficiente para atuar como plastificante na matriz de pectina (MENDES *et al*., 2020).

Figura 1 – Eletromicrografias do corte transversal dos filmes.



Legenda: PEC = filme de pectina puro; STw = filme de pectina incorporado com emulsão sonificada de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando o surfactante Tween 80; Tw = filme de pectina incorporado com emulsão não sonificada de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando o surfactante Tween 80; SPl = filmede pectina incorporado com emulsão sonificada de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando o surfactante Pluronic F127; Pl = filme de pectina incorporado com emulsão não sonificada de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando o surfactante Pluronic F127 e PVC = filme comercial. Diâmetro dos poros presentes nos filmes de pectina incorporados com emulsões de óleo essencial de *T. vulgaris*. As barras de tamanho em PEC, STw, Tw, SPl, Pl e PVC correspondem a 50 μm.

Fonte: Do autor (2024).

Com a incorporação das nanoemulsões às formulações dos filmes, foi possível observar nos cortes transversais uma estrutura semelhante a folhas empilhadas em camadas compactadas, sendo isso um indicativo de que o óleo essencial de *T. vulgaris* foi incorporado à matriz do filme (NISAR *et al*., 2018). Pelas eletromicrografias, é possível notar a presença de microporos, indicando que houve a incorporação do óleo essencial de *T. vulgaris* presente nas nanoemulsões nos filmes de pectina. Com a presença desses microporos, pode-se inferir que houve interação intermoleculares entre a rede de pectina e a superfície das nanoemulsões, de forma que o óleo ficasse incorporado na matriz de pectina. Notou-se que as gotas de óleo essencial foram homogeneamente aprisionadas na matriz de polissacarídeos, levando à formação de microestruturas com superfícies mais rugosas do que o filme PEC. Resultados semelhantes ao do presente estudo foram observados por Abdalla *et al*. (2023) e Nisar *et al*. (2018), que relataram presença de estrutura homogênea nos filmes de pectina e estrutura com superfície rugosa nos filmes incorporados com nanoemulsão de óleo essencial de limão e óleo essencial de canela, respectivamente.

A porosidade dos filmes contendo emulsão sonificada e não sonificada preparadas com Tween 80 foram semelhantes, e maiores que dos filmes com Pluronic F127 (Figura 1), provavelmente devido ao menor tamanho de partícula das emulsões sonificadas e a uma distribuição mais homogênea (Tabela 2). Esses diâmetros dos poros medidos nos filmes foram bem maiores do que o tamanho das partículas do óleo essencial presentes nas nanoemulsões, como observado no gráfico da Figura 1. Possivelmente, com a evaporação do solvente e desidratação dos filmes, ocorrem a agregação e coalescência das gotículas do óleo essencial incorporadas aos filmes de pectina (AKHTER *et al*., 2019; NORCINO *et al*., 2020).

Silva *et al*. (2019) observaram imperfeições nos filmes incorporados com as nanoemulsões, justificando que essas imperfeições são derivadas do processo de secagem dos filmes e da taxa de evaporação do solvente, não alterando a matriz do polímero e mostrando ser uma boa alternativa para produzir novos materiais nanocompósitos.

Zhao *et al*. (2022), ao incorporarem nanoemulsoes de óleo essencial de canela-perilla em filmes comestíveis à base de nanocompósitos de quitosana/colágeno/antocianidina, observaram que o menor tamanho das nanoemulsões incorporados aos polímeros dos filmes reduziu a presença de bolhas e porosidade, melhorando as propriedades mecânicas e de barreira dos filmes comestíveis. Esses resultados estão de acordo com o presente estudo.

Mesmo que as microestruturas sejam diferentes, pelas eletromicrografias é observado que as emulsões/nanoemulsões apresentaram um sistema de emulsão estável e nenhum colapso de gota ocorreu durante a secagem do filme, não havendo defeitos na sua estrutura. Ou seja, a incorporação das emulsões não gerou impacto negativo, como a presença de rachaduras, buracos ou redução da coesão na morfologia dos filmes. A distribuição uniforme das emulsões à matriz dos filmes também já foi observada nos estudos de Bagheri *et al*. (2022) e Norcino *et al*. (2020).

Pode-se observar também que os filmes que foram produzidos utilizando o surfactante Pluronic F127 apresentaram aumento na quantidade de microporos e redução do tamanho dos microporos presentes nos filmes (Figura 1 – SPl e Pl; Gráfico de diâmetro dos poros). De acordo com Jahromi, Niakousari e Golmakani (2022) e Shalaby *et al*. (2021), a distribuição uniforme de gotículas de emulsão, sua distribuição em um filme e a redução do tamanho das gotículas de óleo durante a homogeneização podem estar relacionados com o surfactante utilizado. Isso pode resultar no aumento do número de interações entre o óleo e a matriz polimérica, semelhantemente ao que foi observado neste estudo.

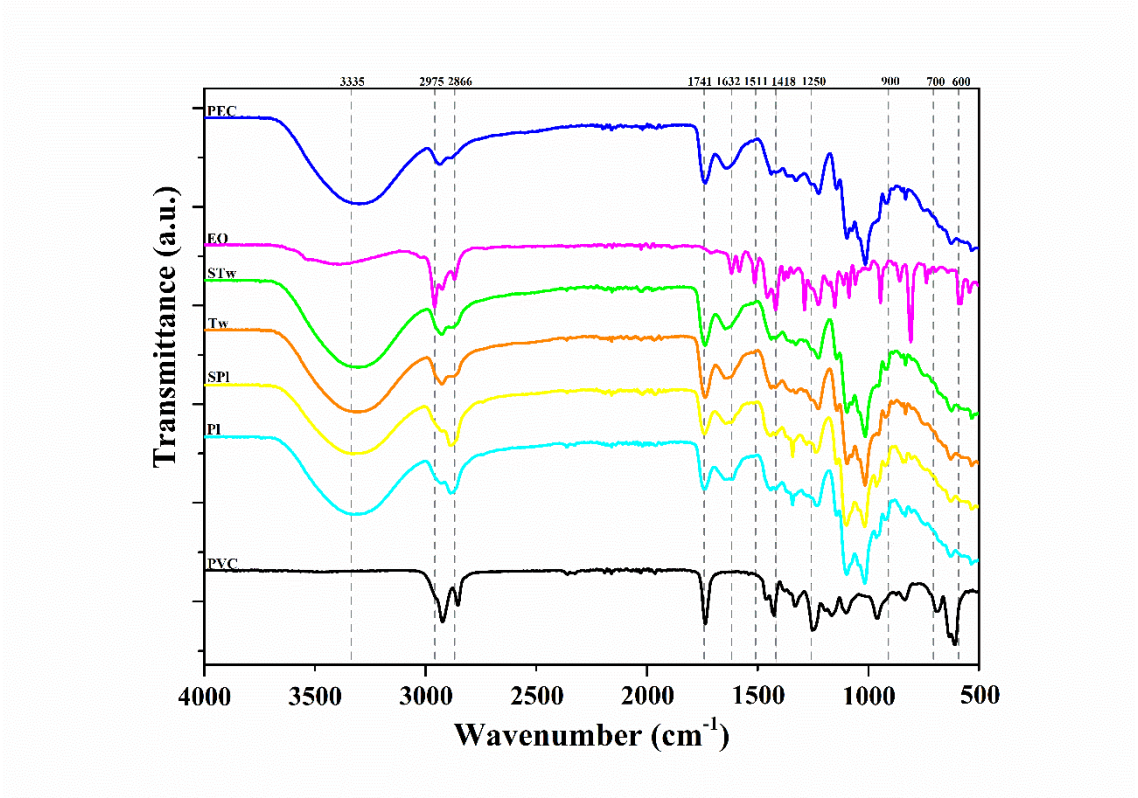
A eletromicrografia transversal do filme PVC (Figura 1 - PVC) mostrou uma superfície relativamente lisa e homogênea; porém, com algumas irregularidades, semelhantemente ao observado no estudo realizado por Apchain *et al*. (2022).

3.3.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR do óleo essencial de *T. vulgaris* e dos filmes PEC, STw, Tw, SPl, Pl e PVC são apresentados na Figura 2. O filme PEC e os filmes STw, Tw, SPl e Pl apresentaram picos característicos de pectina. A ampla banda de absorção no filme de pectina em 3335 cm^{-1} é relacionada ao estiramento -O-H das moléculas de água e dos grupos hidroxila da pectina. A banda em 2930 cm^{-1} é referente às vibrações das ligações -C-H dos carbonos do anel piranoide. A banda localizada aproximadamente em 1741 cm^{-1}, corresponde ao estiramento das ligações -C=O dos grupos ésteres e outros grupos como de ácidos carboxílicos. A presença das bandas em 1632 e 1438 cm^{-1} são atribuídas às vibrações de estiramento assimétrico e simétrico, respectivamente, dos grupos carboxílicos em sua forma carboxilato, presentes na pectina. Além disso, a região espectral entre 1200 e 1000 cm^{-1} está relacionada com as vibrações de -C-O e -C-C de

ligações glicosídicas e anéis de piranose. As bandas de vibrações com frequência menor que 1000 cm^{-1} são consideradas como região da "impressão digital" do polissacarídeo. Esses resultados estão de acordo com Abdalla *et al*. (2023), Mendes *et al*. (2020) e Norcino *et al*. (2020).

Figura 2 – Espectros infravermelhos de transformada de Fourier de refletância total atenuada de óleo essencial de *T. vulgaris*, filmes de pectina e filme comercial.



Legenda: EO = óleo essencial de *T. vulgaris*, PEC = filme de pectina puro, STw e SPl = filmes de pectina incorporados com emulsões sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente; Tw e Pl = filmes de pectina incorporados com emulsões não sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente; e PVC = filme comercial.
Fonte: Do autor (2024).

O espectro no infravermelho do óleo essencial de *T. vulgaris* apresentou a banda entre 3400 a 3650 cm^{-1}, que é atribuída ao grupo -O-H do timol e às bandas entre1700 e 1200 cm^{-1} são características para vibração de alongamento -C=O e -C-O de terpenos oxigenados. A banda presente em 1511 cm^{-1} está relacionada ao estiramento -C=C, referente aos anéis aromáticos presentes no timol, *ρ*-cimeno e carvacrol. A banda em 1418 cm^{-1} é referente ao estiramento -C-O, que vem do grupo fenil presente no timol. A banda em 1450 cm^{-1} é referente ao estiramento -C-C do grupo fenil (ALSAKHAWY *et al*., 2022; PEIXOTO *et al*., 2023).

Observou-se mudanças nos espectros dos filmes de pectina após incorporação do óleo essencial de *T. vulgaris*, contendo como constituintes majoritários timol, *ρ*-cimeno, carvacrol e também alguns minoritários como linalol e γ-terpineno, semelhante ao estudo realizado por Peixoto *et al*. (2023). Dessa forma, observou-se aumento da intensidade das bandas em 2975, 2928 e 2866 cm^{-1}, que estão relacionadas ao estiramento -C-H, específicas para a hibridizações sp^3 e sp^2 presentes nas estruturas desses constituintes citados anteriormente (DINU *et al*., 2021). Também foi observado o aumento da intensidade da banda em 1418 cm^{-1} nos filmes de pectina incorporados com óleo essencial de *T. vulgaris*, característico dos constituintes voláteis do óleo.

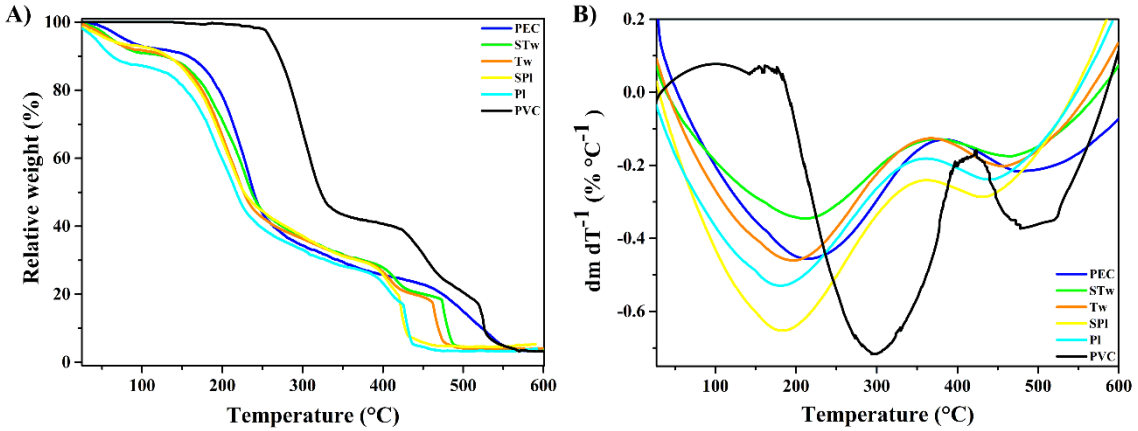
Como observado por Brandão *et al*. (2022) e Mendes *et al*. (2020) e semelhante ao presente estudo, todas essas mudanças de vibração confirmam a presença de interações entre a matriz do filme, os surfactantes e o óleo essencial de *T. vulgaris* incorporados, indicando uma formulação de sucesso. Também foram observadas diferenças entre os espectros dos filmes com os dois diferentes surfactantes utilizados. De acordo com Musa *et al*. (2017) e Fonseca-García *et al*. (2021), o surfactante Pluronic F127 possui o pico característico de estiramento -C-H em 2882 cm^{-1}. Para o Tween 80, foram observados picos assimétricos e simétricos de CH_2 em 2938 cm^{-1} e 2869 cm^{-1}, respectivamente. Os resultados desse estudo corroboram com os resultados obtidos por Fonseca-García *et al*. (2021) e Musa *et al*. (2017).

Para o filme de PVC, as bandas entre 2800 e 3000 cm^{-1} correspondem ao estiramento -C-H. As bandas entre 900 e 1250 cm^{-1} correspondem ao estiramento -C-C do grupo -CH_2-CHCl da estrutura do polímero. Na faixa entre 600 a 700 cm^{-1}, as bandas presentes correspondem ao estiramento -C-Cl. Essas bandas características do filme de PVC estão de acordo com dados encontrados na literatura (CHEN *et al*., 2018; SREE *et al*., 2017; THOMAS, 2023).

3.3.3 Propriedades térmicas

As curvas termogravimétricas (TG) e suas primeiras derivadas (DTG) para filmes à base de pectina e o filme comercial PVC são ilustradas na Figura 3.

Figura 3 – Curva termogravimétrica (A) e sua derivada (B) dos filmes de pectina e PVC.



Legenda: PEC = filme de pectina puro, STw e SPl = filmes de pectina incorporados com emulsões sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente; Tw e Pl = filmes de pectina incorporados com emulsões não sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente; e PVC = filme comercial.

Fonte: Do autor (2024).

Observa-se que, nos filmes de pectina, as curvas de TG (Figura 3A) mostram três estágios da perda de massa, sendo de A) até 100 ºC, B) 120 a 280 ºC e C) a partir de 400 ºC. No primeiro estágio, as amostras perderam de 6% a 12% da massa, atribuído à eliminação da água adsorvida na matriz dos filmes durante o processo de aquecimento (MENDES *et al*., 2020; MOREIRA; MOREIRA; PRATA, 2024). O segundo estágio de perda de massa ocorreu devido à degradação do glicerol adicionado aos filmes como plastificante, à degradação térmica da pectina decorrente da despolimerização das cadeias poliméricas; gerando a liberação de CO_2, H_2O e CO; e a geração de compostos alifáticos. O terceiro estágio de degradação foi relacionado com a combustão de resíduos de carbono aromático presentes na pectina (ASFAW; TAFA; SATHEESH, 2023; MAO *et al*., 2024; MOREIRA; MOREIRA; PRATA, 2024; NORCINO *et al*., 2020; SUN; WEI; XUE, 2023).

A taxa de decomposição dos filmes analisados pode ser avaliada pela primeira curva derivada (Figura 3B), em que os picos representam a taxa máxima de perda de massa. Na segunda etapa, os filmes de pectina apresentaram perda de massa máxima variando entre 190 a 220 ºC. Semelhantemente ao presente estudo, Silva *et al*. (2020) e Siracusa *et al*. (2018) observaram a degradação térmica de filmes de pectina na curva de DTG ocorrendo a 232 ºC e 210-220 ºC, respectivamente, justificando ser essa perda de massa devido à degradação do esqueleto polimérico. Na terceira etapa, a perda máxima

de massa ocorreu entre 430 ºC e 470 ºC, relacionada à degradação do carbono remanescente nas amostras (ALDANA *et al*., 2015).

A incorporação de emulsões sonificadas e não sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* aos filmes de pectina, independentemente do surfactante, influenciou na estabilidade térmica dos filmes, pois valores de temperaturas correspondentes ao início de degradação térmica (T_{onset}) foram inferiores aos valores de T_{onset} para o filme de pectina puro (PEC) (Tabela 3). A redução da T_{onset} dos filmes provavelmente ocorreu devido à adição de emulsões, e isso já foi relatado anteriormente (MENDES *et al*., 2021; NORCINO *et al*., 2020) Esses valores mais baixos de T_{onset} para os filmes incorporados com nanoemulsões estão relacionados com a menor estabilidade e evaporação do óleo essencial, que ocorre antes da degradação da pectina (MENDES *et al*., 2021). A massa residual de todos os filmes a 600 ºC pode ser observada na Tabela 3. De acordo com Norcino *et al*. (2020), os constituintes que compõem os anéis aromáticos em suas estruturas químicas são estáveis até 600 °C.

Tabela 3 – Propriedades térmicas - temperaturas de degradação inicial (T_{onset}) e final (T_{offset}) e massa residual a 600 ºC para os filmes de pectina e PVC.

Amostra	**T_{onset} (ºC)**	**T_{offset} (ºC)**	**(%) Resíduo a 600 ºC**
PEC	190	543	2,4
STw	179	482	4
Tw	167	476	4,9
SPl	168	440	2,9
Pl	163	445	2,4
PVC	283	531	8,5

PEC = filme de pectina puro, STw e SPl = filmes de pectina incorporados com emulsões sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente; Tw e Pl = filmes de pectina incorporados com emulsões não sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente; e PVC = filme comercial.

Fonte: Do autor (2024).

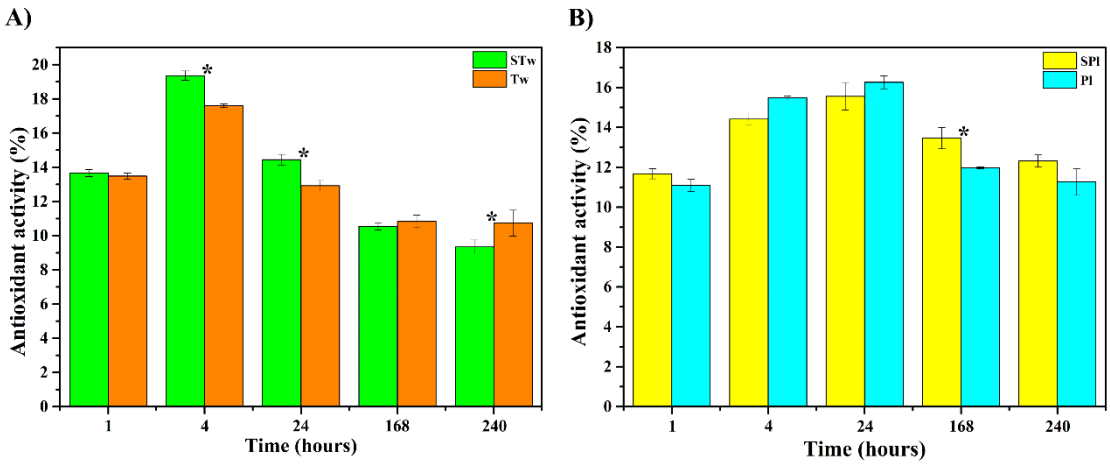
Para o filme de PVC, a curva indicou que a perda de massa também ocorreu em três estágios de degradação: A) de 230 ºC a 350 ºC, B) de 360 ºC a 460 ºC e C) acima de 460 ºC, apresentando comportamento diferente dos filmes de pectina. A primeira etapa é caracterizada pela desidrocloração dos polímeros voláteis. Na segunda etapa, ocorre a quebra e decomposição do PVC e, na terceira etapa, ocorre a lenta degradação do resíduo remanescente. As etapas de degradação do PVC são variáveis de acordo com

estabilizantes, plastificantes, retardadores de chama, cargas e lubrificantes (EDRAKI *et al*., 2021).

3.3.4 Migração de compostos antioxidantes dos filmes para simuladores de alimentos gordurosos

A atividade antioxidante dos filmes de pectina incorporados com nanoemulsões de óleo essencial de *T. vulgaris* foi estudada, e os resultados estão ilustrados na Figura 4. Os filmes PEC e PVC não apresentaram atividade antioxidante por meio do teste de estabilização do radical DPPH.

Figura 4 – Percentual de estabilização do radical DPPH dos compostos antioxidantes dos filmes de pectina incorporados com emulsões sonificadas e não sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris*, como medida da atividade antioxidante.



Legenda: STw e SPl = filmes de pectina incorporados com emulsões sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente e Tw e Pl = filmes de pectina incorporados com emulsões não sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente. Barras correspondem ao erro padrão da média.
*Diferença significativa ($P \leq 0,05$) entre as emulsões sonificadas e não sonificadas.
Fonte: Do autor (2024).

Observou-se que, para o surfactante Tween 80 (Figura 4 A) nos tempos de 4, 24 e 240 horas, STw se difere estatisticamente de Tw, e para o surfactante Pluronic F127 (Figura 4 B), SPl se difere significativamente de Pl apenas no tempo de 168 horas. De forma geral, maiores valores de atividade antioxidante foram observados para os filmes

que foram incorporados de emulsões sonificadas e, dessa forma, esses filmes foram selecionados para aplicação nos salaminhos.

A atividade antioxidante dos filmes está relacionada com a liberação do óleo essencial de *T. vulgaris* no simulante de alimento gorduroso. Essa atividade do óleo essencial provavelmente é devido aos constituintes timol e carvacrol, monoterpenos com características fenólicas, e também com alguns constituintes minoritários. Isso pode ser atribuído à doação de um átomo de hidrogênio, pertencente ao grupo hidroxila, ao radical livre, com subsequente eliminação e estabilização por ressonância (TEIXEIRA *et al*., 2023).

As atividades antioxidantes dos filmes preparados com o surfactante Pluronic F 127 foram maiores do que as dos filmes preparados com o surfactante Tween 80 a partir do tempo de 24 horas, mostrando que o Pluronic F 127 foi capaz de reduzir a volatilidade do óleo essencial de *T. vulgaris*. Provavelmente, para os filmes que foram produzidos com o surfactante Tween 80, ocorreu uma liberação inicial rápida, seguida por uma liberação lenta sustentada dos constituintes antioxidantes do óleo essencial presentes nos filmes para o simulante. Assim, observou-se que a utilização de diferentes surfactantes pode influenciar na volatilidade do óleo essencial de *T. vulgaris* e, consequentemente, na sua atividade antioxidante.

Os resultados deste estudo corroboram com os resultados obtidos no estudo realizado por Liu *et al*. (2017), que avaliaram a liberação controlada de polifenóis de chá incorporados em filmes de gelatina. Os autores afirmam que a liberação inicial rápida proporciona proteção em curto prazo e a subsequente liberação mais lenta garantiu a proteção intermediária/longo prazo.

Muitos fatores podem influenciar no comportamento de liberação de compostos ativos incorporados em filmes biopoliméricos, tais como a composição química dos compostos ativos, interações entre o polímero e o composto ativo, estrutura da matriz e condições do meio circundante (PIÑEROS-HERNANDEZ *et al*., 2017).

3.4 Aplicação dos filmes na preservação de salaminhos fatiados

3.4.1 Avaliação da cor instrumental e quantificação do hexanal

Os resultados para o conteúdo do hexanal e cor dos salaminhos fatiados e embalados pelos diferentes filmes durante 14 dias a 7 ºC são apresentados na Tabela 4. A

cor dos produtos cárneos é um atributo importante, pois é o primeiro a ser observado pelos consumidores no momento da compra (DEMARCO *et al*., 2022).

Tabela 4 – Efeitos do tratamento (T) e tempo de armazenamento (D) nos valores de hexanal, índices de cor e cor curada de salaminhos fatiados e armazenados a 7 °C por 14 dias.

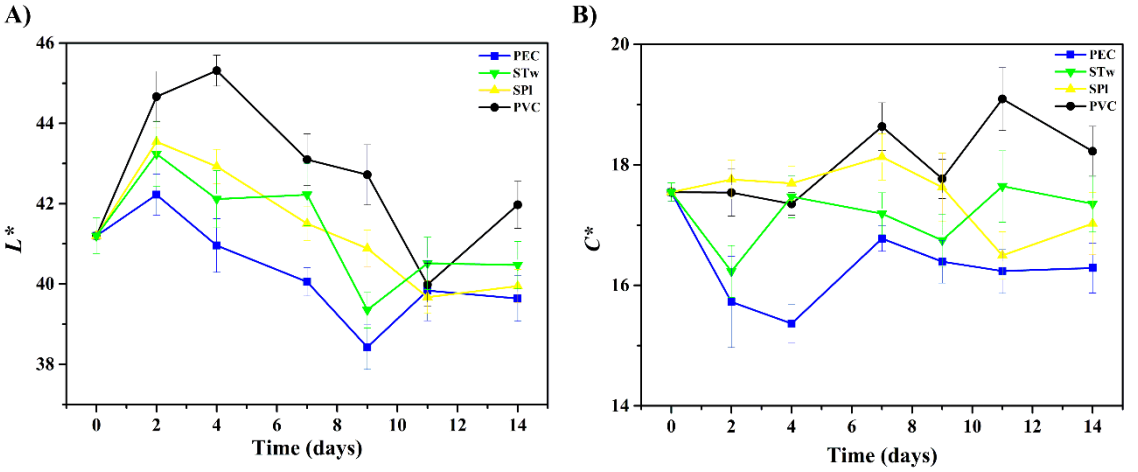
Effects	**Source of variation**	**Lightness, *L****	**Chroma, *C****	**Hue angle, *h* (°)**	**Cured color R650/570nm**	**Hexanal (ng g^{-1})**
Treatment (T)	PEC	40,27	16,24	35,25	2,93^{B}	22,49^{A}
	STw	41,31	17,14	35,34	3,04^{A}	17,83^{B}
	SPl	41,40	17,46	35,76	3,07^{A}	14,99^{B}
	PVC	42,82	18,06	36,33	3,08^{A}	23,49^{A}
Storage time, days (D)	0	41,20	17,55	33,77^{c}	3,18^{a}	12,49^{c}
	2	43,42	16,81	35,67^{ab}	2,93^{c}	13,98^{c}
	4	42,83	16,97	35,77^{ab}	2,95^{c}	13,23^{c}
	7	41,72	17,68	35,15^{b}	3,09^{b}	33,78^{a}
	9	40,35	17,13	35,05^{b}	3,06^{b}	17,65^{c}
	11	40,00	17,37	36,61^{a}	3,07^{b}	27,51^{ab}
	14	40,51	17,22	36,72^{a}	3,03^{b}	19,27^{bc}
	SEM	0,14	0,09	0,15	0,01	1,34
Pr > F‡	T	***<0,001***	***<0,001***	*0,063*	***0,001***	***0,001***
	D	***<0,001***	*0,055*	***<0,001***	***<0,001***	***<0,001***
	T×D	***0,014***	***0,016***	*0,590*	*0,486*	*0,084*

PEC = filme de pectina puro, STw e SPl = filmes de pectina incorporados com emulsões sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente e PVC = filme comercial.
SEM = erro padrão da média (n = 56)
‡ Probabilidades significativas ($P \leq 0,05$) foram destacadas em negrito.
$^{A-B}$ Médias seguidas de letras diferentes, entre tratamentos, diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.
$^{a-c}$ Médias seguidas de letras diferentes, entre os tempos de armazenamento, diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Tukey.

Fonte: Do autor (2024).

Observou-se o efeito ($P \leq 0,05$) da interação entre os tratamentos (T) e o tempo de armazenamento (D) para luminosidade (L*) e saturação (C*) e, dessa forma, realizou-se o desdobramento dos dados para avaliar esses efeitos (Figura 5).

Figura 5 – Estabilidade dos parâmetros de cor de salaminhos fatiados durante o armazenamento por 14 dias a 7 ºC.



Legenda: A) Luminosidade (*L**) e B) saturação (*C**). PEC = filme de pectina puro, STw e SPl = filmes de pectina incorporados com emulsões sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente; e PVC = filme comercial. Barras correspondem ao erro padrão da média (n = 4).

Fonte: Do autor (2024).

Maiores valores de luminosidade (*L**) foram observados para os salaminhos embalados com filmes de PVC (controle). Nos primeiros 11 dias de armazenamento, observou-se comportamento semelhante para os tratamentos, havendo aumento inicial seguido por queda de *L**. Esse comportamento diferenciou-se entre os tratamentos apenas no décimo quarto dia, para o PVC. Varga-Visi *et al*. (2022) aplicaram solução de timol em salaminhos fatiados e observou-se que valores de *L** para amostras não tratadas era maior do que para amostras tratadas, sendo que esses valores sofreram flutuações ao longo do tempo de armazenamento, semelhantemente ao presente estudo. Destaca-se que os parâmetros de cor podem apresentar variações devido à presença dos glóbulos de gordura (DEMARCO *et al*., 2022).

Também para saturação (*C**) (intensidade da cor), observaram-se maiores valores para os salaminhos embalados com filmes de PVC ao longo do período de 14 dias. Observou-se que as amostras em que foram usados os filmes contendo emulsões sonificadas de óleo essencial apresentaram mudanças nos parâmetros de cor, ficando mais escuras, e a intensidade da cor dependente do tratamento.

Dos índices de cor, o ângulo de matiz (h) (tom da cor) foi afetado ($P \leq 0{,}05$) apenas pelo tempo de armazenamento. Os valores de h dos salaminhos aumentaram ao longo do tempo de armazenamento e esse aumento está relacionado à descoloração dos produtos para tonalidade menos vermelha-rosada e mais acastanhada, devido à formação gradual

de metamioglobina, indicativo da oxidação, reforçado pela perda da cor curada (FERNANDES *et al*., 2018; GUIMARÃES *et al*., 2022; SOUZA *et al*., 2024). Esse desbotamento pode ocorrer devido ao oxigênio residual incorporado no produto durante seu fatiamento, influenciando na deterioração da cor durante o armazenamento (FERNANDES *et al*., 2018).

Em relação à estabilidade da cor curada, não houve efeito ($P \geq 0,05$) da interação entre os tratamentos e o armazenamento, sendo observado efeito isolado ($P \leq 0,05$) entre os tratamentos e entre os dias de armazenamento. Constatou-se a redução dos valores de cor curada (R650/570nm) com o tempo, e isso está relacionado com o aumento da descoloração dos produtos cárneos (GUIMARÃES *et al*., 2022). Entre os tratamentos, apenas os salaminhos tratados com filme de pectina diferiram-se dos demais, apresentando uma menor intensidade da cor curada.

Com o passar do tempo de armazenamento, os níveis de nitrito adicionado tendem a diminuir gradativamente, devido à descoloração desses produtos, caracterizado pela perda de cor curada ou desbotamento, induzido pela oxidação durante esse período de armazenamento (GUIMARÃES *et al*., 2022). O nitrito é responsável por conferir a cor de carne curada, e a reação do nitrito com a mioglobina presente na carne resulta no pigmento nitrosilmioglobina, característico da carne curada. A nitrosomioglobiana é estável na ausência de oxigênio, mas, na presença de oxigênio e de agentes oxidantes, é convertida da em metamioglobina, de cor marrom. A formação da metamioglobina nos produtos cárneos comerciais representa um desafio (VARGA-VISI *et al*., 2022).

Para o hexanal, não foi observado efeito da interação entre os tratamentos (T) e o tempo de armazenamento (D) ($P > 0.05$), sendo observado efeito isolado entre os tratamentos (T) ($P \leq 0,05$) e os dias de armazenamento (D) ($P \leq 0,05$). Com relação ao tempo de armazenamento, os resultados do presente estudo corroboram com os encontrados por Nobile *et al*. (2024), que avaliaram a vida útil de salame fatiado, utilizando embalagens biodegradáveis fabricadas com ácido polilático. Os autores também observaram maiores teores de hexanal no final da vida útil dos salames fatiados e embalados. Esse composto orgânico é um aldeído saturado de seis carbonos e desempenha um papel crucial na avaliação da qualidade dos produtos cárneos suscetíveis à oxidação, uma vez que é considerado o composto volátil que está correlacionado com o grau de oxidação da gordura, sendo considerado o composto mais eficaz do que qualquer outro componente volátil para essa correlação. É produto da oxidação do ácido linoleico (C18:2n-6) e araquidônico (C20:4n-6), que produz aroma rançoso e

desagradável quando presente em altas concentrações, podendo ser considerado como um indicador da oxidação lipídica (LIU *et al*., 2023; NOBILE *et al*., 2024; VILARINHO *et al*., 2018).

Com relação aos tratamentos, observou-se que os salaminhos embalados com filmes de pectina incorporados com emulsões sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris*, independentemente do tipo de surfactante, apresentaram concentração de hexanal inferior ($P > 0,05$) aos salaminhos embalados com os filmes PEC e PVC, ou seja, os salaminhos embalados com filmes de pectina incorporados com essas emulsões apresentaram menor grau de oxidação lipídica. Isso provavelmente é devido à presença do óleo essencial de *T. vulgaris*, que é conhecido por possuir atividade antioxidante, retardando, assim, a oxidação lipídica dos salaminhos fatiados (DINU *et al*., 2021; LIU *et al*., 2023).

3.4.2 Identificação dos compostos orgânicos voláteis

Os resultados da determinação de compostos orgânicos voláteis (VOCs) nas amostras de salaminhos fatiados estão apresentadas na Tabela 5. Um total de 25 substâncias voláteis foram identificadas, com predominância de terpenos (*n*=19), seguido de aldeídos (*n*=4), ácido (*n*=1) e álcool (*n*=1). Os salaminhos embalados com filmes STw apresentaram o maior somatório de compostos voláteis, seguido dos salaminhos embalados com filmes de SPl, PVC e PEC.

.

Tabela 5 – Perfil de compostos orgânicos voláteis (contagem total de íons × 10^5) de salaminhos fatiados embalados com diferentes filmes armazenados durante 14 dais a 5 °C.

				Treatments (T)				Storage days (D)								
Compound	**RT (min)**	**RI_{ref}**	**RI_{cal}**	**PEC**	**STw**	**SPl**	**PVC**	**0**	**2**	**4**	**7**	**9**	**11**	**14**	**SEM**	**Sig.**
ACID																
Acetic acid		-	-	97,30	88,05	90,21	103,69	52,75	53,32	79,48	81,40	132,19	131,01	133,55	5,91	D; TxD
ALCOHOL																
Ethanol		-	-	2,13	1,60	1,67	1,29	$1,55^{bc}$	$2,83^{a}$	$1,49^{bc}$	$0,87^{c}$	$0,59^{c}$	$2,12^{ab}$	$2,27^{ab}$	0,15	D
ALDEHYDES																
Hexanal	9.984	801	801	$10,09^{a}$	$6,22^{b}$	$3,88^{b}$	$10,91^{a}$	$1,81^{d}$	$3,04^{cd}$	$2,42^{d}$	$19,42^{a}$	$6,08^{cd}$	$14,23^{b}$	$7,42^{c}$	1,11	T; D
Octanal	20.484	998	1002	$9,68^{b}$	$9,70^{b}$	$10,32^{b}$	$11,91^{a}$	$8,21^{d}$	$8,42^{d}$	$9,76^{cd}$	$8,70^{d}$	$14,63^{a}$	$12,05^{b}$	$11,04^{bc}$	0,39	T; D
Nonanal	27.565	1100	1103	$48,17^{b}$	$32,97^{c}$	$38,06^{c}$	$62,83^{a}$	$36,58^{d}$	$41,74^{cd}$	$39,88^{cd}$	$36,85^{d}$	$61,49^{a}$	$55,10^{ab}$	$46,94^{bc}$	2,29	T; D
Decanal	32.796	1201	1204	3,72	2,03	1,99	6,11	1,47	2,89	3,55	3,21	4,53	4,42	4,19	0,32	T; D; TxD
TERPENES																
α-Thujene	14.976	924	922	$13,02^{a}$	$8,29^{b}$	$8,91^{b}$	$12,09^{a}$	$18,58^{a}$	$8,34^{b}$	$9,43^{b}$	$9,36^{b}$	$9,32^{b}$	$9,31^{b}$	$9,68^{b}$	0,57	T; D
α-Pinene	15.404	932	928	7,73	26,08	27,15	7,87	9,11	11,20	15,96	19,06	21,01	20,45	23,68	1,62	T; D; TxD
Sabinene	18.134	969	968	8,31	3,26	3,58	8,15	11,13	4,32	4,15	5,54	5,76	5,41	4,47	0,50	T; D; TxD
β-Pinene	18.396	974	972	7,47	7,03	7,38	7,58	9,36	5,03	6,21	7,51	7,89	7,68	7,89	0,22	D; TxD
Myrcene	19.458	988	987	8,95	21,28	22,99	9,09	5,74	9,67	15,05	17,70	21,05	19,78	20,06	1,24	T; D; TxD

α-Terpinene	21.304	1014	1013	12,88	34,25	35,87	13,44	10,66	17,43	24,78	24,71	31,01	30,46	29,73	1,91	T; D; TxD
ρ-Cymene	22.020	1020	1024	331,72	817,15	811,14	383,51	10,37	440,34	619,24	694,80	816,63	804,85	714,91	49,24	T; D; TxD
Limonene	22.221	1024	1026	33,88	43,93	48,29	34,36	36,68	30,81	37,20	41,47	44,44	44,35	45,87	1,23	T; D; TxD
γ-Terpinene	24.358	1054	1057	38,82	90,86	98,59	43,87	27,54	49,67	69,36	70,10	88,48	85,61	85,46	4,89	T; D; TxD
Guaiacol	26.231	1087	1083	18,15	14,87	14,64	15,52	22,09^{a}	10,92^{c}	13,95$^{b}_{c}$	17,16$^{a}_{b}$	13,84$^{b}_{c}$	15,19$^{b}_{c}$	17,41$^{a}_{b}$	0,76	T
Linalool	27.310	1095	1099	74,03	106,50	88,24	79,80	76,35	68,51	90,48	87,66	105,71	90,92	90,36	2,88	T; D; TxD
Borneol	31.130	1165	1171 *	3,38	62,08	48,18	5,69	0,00	17,43	34,23	30,49	50,71	34,22	41,75	4,58	T; D; TxD
4-Terpineol	31.561	1174	1179	18,16^{b}	32,79^{a}	27,42^{a}	20,12^{b}	15,79^{d}	18,48^{d}	27,72$^{a}_{b}$	24,31$^{b}_{cd}$	33,46^{a}	25,74$^{a}_{bc}$	26,87$^{a}_{bc}$	1,50	T; D
(*E*)-Anethole	36.195	1282	1285	4,94	135,65	114,00	16,42	/	33,59	68,76	73,13	100,59	122,94	75,27	10,77	T; D; TxD
Thymol	36.489	1289	1292	53,79	743,74	665,05	115,95	/	189,71	382,29	450,68	564,52	700,35	474,87	59,33	T; D; TxD
Carvacrol	36.754	1298	1299	3,85	113,01	96,48	8,51	/	24,14	52,60	66,38	76,52	101,08	67,52	9,46	T; D; TxD
α-Copaene	39.594	1374	1377	7,94^{c}	12,73^{a}	12,42$^{a}_{b}$	9,83^{bc}	7,62^{c}	7,76^{c}	11,21^{abc}	11,77$^{a}_{b}$	13,77^{a}	13,59^{a}	9,39^{bc}	0,61	T; D
Methyleugenol	1400	1403	40.407	4,92	9,50	9,19	6,52	4,27	4,22	6,15	8,46	10,46	10,36	8,79	0,53	T; D; TxD
(E)-Caryophyllene	41.141	1417	1423 *	40,80^{b}	54,34^{a}	58,09^{a}	48,32$^{a}_{b}$	41,27$^{b}_{c}$	38,22^{c}	53,11$^{a}_{b}$	52,69$^{a}_{bc}$	60,12^{a}	57,74^{a}	49,54$^{a}_{bc}$	2,21	T; D
Σ ACIDS				97	88	90	104	53	53	79	81	132	131	134	5	D; TxD

Σ ALCOHOLS	2,1	1,6	1,7	1,3	1,6	2,8	1,5	0,9	0,6	2,1	2,3	0,1	T
Σ ALDEHYDES	72	51	54	92	48	56	56	68	87	86	70	4	T; D
Σ TERPENES	693	2337	2198	847	307	990	1542	1713	2075	2200	1804	154	T; D; TxD
Σ TOTAL	864	2478	2344	1043	409	1102	1678	1863	2295	2419	2009		

RT = Retention time; RI_{ref} = Reference retention index (Adams, 2017); RI_{cal} = Calculated retention index, / = not detected; PEC = filme de pectina puro, **S**Tw e **S**Pl = filmes de pectina incorporados com emulsões sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente; e PVC = filme comercial. SEM = erro padrão da média (n = 56).

Fonte: Do autor (2024).

De acordo com Kim *et al*. (2021) e Liu *et al*. (2023), a formação de álcoois como o etanol está relacionada com a fermentação microbiana dos carboidratos presentes no salame. Esses autores afirmam que é difícil o teor de álcoois gerar um efeito significativo no sabor geral da salames devido ao seu limiar elevado. Observou-se que o teor de etanol nas amostras foi maior no segundo dia e nos dois últimos dias de armazenamento.

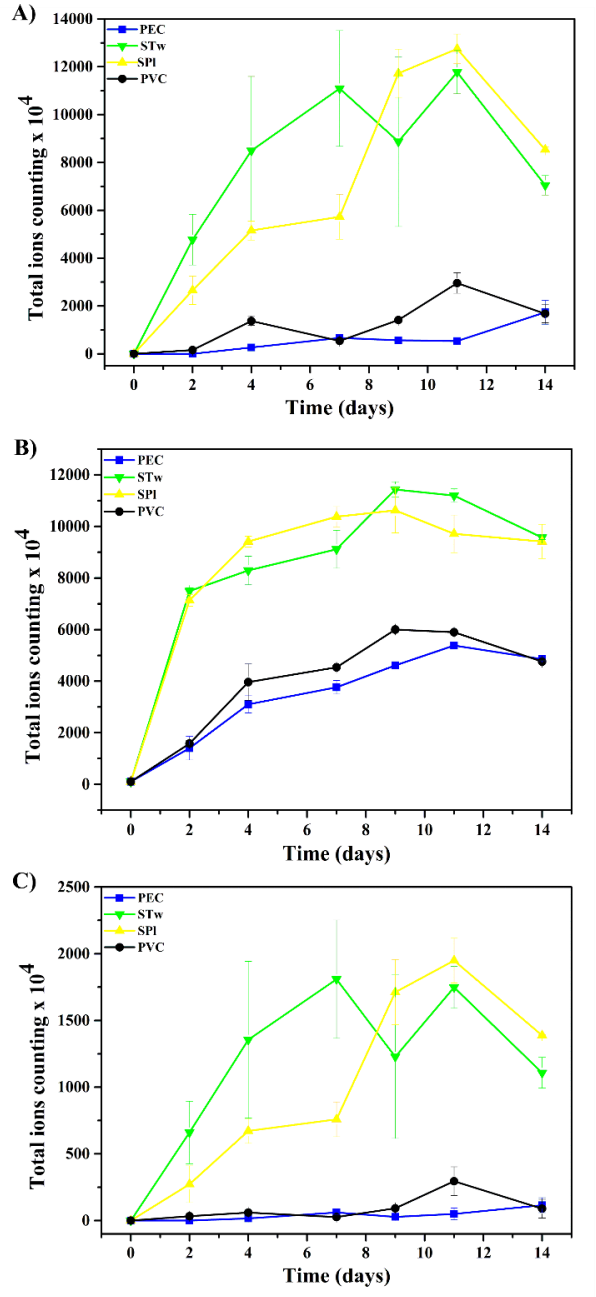
Os aldeídos hexanal, octanal, nonanal e decanal são derivados da oxidação de ácidos graxos insaturados presentes nos alimentos. Diferentemente do hexanal, os aldeídos octanal, nonanal e decanal são formados a partir da degradação/oxidação do ácido oleico (C18:1n-9) (HA *et al*., 2019; KIM *et al*., 2021; NISSEN *et al*., 2023). O maior valor do somatório de aldeídos oxidativos, especialmente hexanal e nonal, foi maior nos salaminhos embalados com filmes PVC e PEC. Provavelmente, o óleo essencial de *T. vulgaris* presente nos filmes de pectina atuou como antioxidante, retardando a oxidação lipídica dos salaminhos, o que justifica o menor número do somatório dos aldeídos oxidativos para as amostras embaladas com filmes incorporados desse óleo essencial.

A proporção de aldeídos nos componentes voláteis totais aumentou com o tempo de armazenamento, indicando maior grau de oxidação lipídica nos salaminhos fatiados, e esses resultados estão de acordo com os encontrados por Liu *et al*. (2023). O aumento do teor de aldeídos com o passar do tempo está relacionado com a perda de qualidade dos salaminhos, pois esse aumento está relacionado com a formação de odor desagradável, que gera a perda de qualidade, devido ao sabor de ranço e metálico formado, gerando assim a rejeição pelos consumidores (KIM *et al*, 2021; LIU *et al*., 2023).

Os terpenos foram as substâncias voláteis encontradas em maior proporção nos salaminhos fatiados e provavelmente se originaram das especiarias adicionadas. Dentre os 19 terpenos identificados, os presentes em maiores teores foram limoneno, β-pineno, sabineno, α-pineno, mirceno, cariofileno e *ρ*-cimeno e, dentre esses, o limoneno, sabineno, α-pineno e β-pineno podem ser atribuídos à presença da pimenta (BELLEGGIA *et al*., 2020; KIM *et al*., 2021; LIU *et al*., 2023; NOBILE *et al*., 2024). Observou-se maiores teores de α-pineno, α-terpineno, *ρ*-cimeno, limoneno, γ-terpineno, linalol, borneol, (*E*)-anethole, timol e carvacrol nos salaminhos embalados com filmes de pectina contendo óleo essencial de *T. vulgaris*, provavelmente devido à liberação desses constituintes voláteis presentes no óleo essencial para os salaminhos (Tabela 1 e Figura 6).

Devido à interação significativa, realizou-se o desdobramento dos tratamentos para os terpenos majoritários timol, *ρ*-cimeno e carvacrol presentes no óleo essencial de *T. vulgaris* durante o tempo de armazenamento, como mostrado nas Figura 6.

Figura 6 – Perfil dos constituintes majoritários do óleo essencial de *T. vulgaris* (contagem total de íons × 10^4). presentes salaminhos fatiados embalados com os diferentes filmes armazenados durante 14 dias a 7 ºC.



Legenda: A) Timol, B) *ρ*-cimeno e C) carvacrol. PEC = filme de pectina puro, **S**Tw e **S**Pl = filmes de pectina incorporados com emulsões sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente; e PVC = filme comercial. Barras correspondem ao erro padrão da média (n = 2).

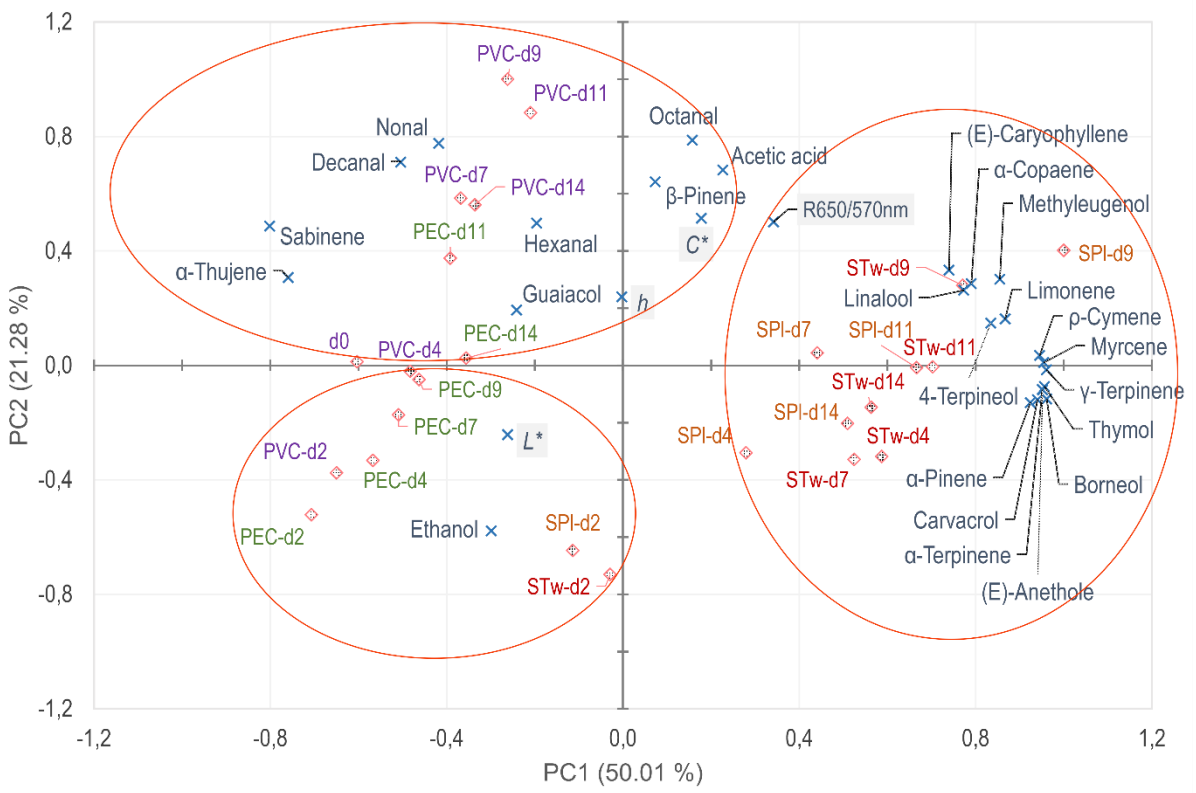
Fonte: Do autor (2024).

Observou-se comportamento semelhante para o timol e para o carvacrol, que aumentaram tanto para as amostras STw e SPl, com pouca ou nenhuma alteração nos filmes-controle (PEC e PVC). Para esses mesmos constituintes, observou-se maior migração até o sétimo dia para STw do que para SPl; e partir do nono dia, a maior migração foi observada para SPl. O comportamento do *ρ*-cimeno também foi similar entre STw e SPl, sendo observado um aumento a partir do segundo dia. Um aumento constante também foi notado para as amostras PVC e PEC, provavelmente devido à volatilidade dos constituintes do óleo essencial presentes nas outras amostras.

Pode-se inferir que, devido a liberação do timol e carvacrol ser maior nos filmes STw nos tempos inicias e nos tempos finais, a liberação desses constituintes ser maior nos filmes SPl, a atividade antioxidante, como mostrado na Figura 4, está provavelmente relacionada com a liberação desses constituintes, com o passar dos dias. A utilização do surfactante Pluronic F127 garantiu o maior controle na disponibilidade do óleo essencial de *T. vulgaris* após longos períodos de armazenamento, pois reduziu a volatilidade dos constituintes que possuem atividade antioxidante, timol e carvacrol, observados em maiores concentrações nos tempos finais. Provavelmente, sensorialmente as amostras embaladas com filmes SPl seriam as ideais, pois o impacto sensorial seria menor, devido à uma liberação mais lenta do carvacrol e do timol, nos primeiros dias de armazenamento.

A análise de componentes principais (PCA) foi realizada para analisar as interrelações entre os tipos de embalagens, a composição volátil formada e a cor, sendo representado na Figura 7. Os dois componentes principais (CP) explicam 71,29% da variação total dos dados: o primeiro (CP1) explicou 50,01% da variância total e o segundo componente principal (CP2) explicou 21,28%. Três grupos de amostras semelhantes foram claramente formados: 1) grupo composto por amostras embaladas com filmes STw e SPl, localizado no centro dos quadrantes direitos; 2) grupo de amostras embaladas com PEC e PVC nos tempos finais de armazenamento, localizado no quadrante superior esquerdo e altamente relacionados com a oxidação lipídica e 3) grupo de amostras embaladas com os 4 diferentes tratamentos, no tempo de 2 dias e embaladas com filmes de pectina nos tempos iniciais, localizado no quadrante inferior esquerdo.

Figura 7 – Análise de componentes principais (PCA) dos compostos orgânicos voláteis dos salaminhos fatiados embalados com os diferentes filmes armazenados durante 14 dias a 7 ºC.



Legenda: PEC = filme de pectina puro, STw e **S**Pl = filmes de pectina incorporados com emulsões sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando os surfactantes Tween 80 e Pluronic F127, respectivamente; e PVC = filme comercial.

Fonte: Do autor (2024).

As amostras embaladas com filmes de PVC a partir do quarto dia de armazenamento, e para o filme PEC, no décimo primeiro e décimo quarto dia de armazenamento, foram altamente associadas com os aldeídos, hexanal, octanal, nonanal e decanal, e essa associação é indicativa de maior oxidação lipídica (ANDRADE *et al*., 2024). Esses resultados reforçam a observação de maior oxidação lipídica nos salaminhos embalados com filme PVC, do que quando com PEC, mostrando que mesmo o filme PEC, sem óleo essencial foi capaz de retardar um pouco a oxidação lipídica, diferentemente das amostras embaladas no filme comercial (PVC).

Da mesma forma, *L** foi mais relacionado com as amostras nos tempos iniciais adicionadas de emulsões e das amostras PEC e PVC, enquanto *C** foi mais associado as amostras oxidadas ou aos compostos indicativos dessa oxidação.

As amostras embaladas com os filmes de pectina incorporados com nanoemulsão de óleo essencial de *T. vulgaris*, independentemente do surfactante usado (Tween 80 ou Pluronic F127) foram capazes de reduzir a formação desses aldeídos e, consequentemente, retardar a

oxidação lipídica. Essas amostras foram relacionadas com os terpenos presentes no óleo essencial de *T. vulgaris* (Tabela 1) e migrados para o salaminho (Tabela 5 e Figura 6).

4 CONCLUSÃO

A utilização de diferentes surfactantes pode influenciar na volatilidade e na liberação dos constituintes do óleo essencial de *T. vulgaris.* Uma maior oxidação lipídica e a mudança da coloração foram observadas nos salaminhos fatiados embalados com o filme comercial. As alterações foram retardadas e controladas nos salaminhos que foram embalados com os filmes de pectina incorporados com emulsão sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris.* Os constituintes do óleo essencial foram liberados de forma controlada; assim, a vida útil dos salaminhos fatiados foi ampliada com embalagens ativas, resultando em maior segurança para alimentos que possuem alto teor de gordura.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, G. *et al*. Eco-sustainable coatings based on chitosan, pectin, and lemon essential oil nanoemulsion and their effect on strawberry preservation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 249, p. 126016, 2023

ABOUD, H. M. *et al.* Preparation and appraisal of self-assembled valsartan-loaded amalgamated Pluronic F127/Tween 80 polymeric micelles: Boosted cardioprotection via regulation of Mhrt/Nrf2 and Trx1 pathways in cisplatin-induced cardiotoxicity. **Journal of drug targeting**, v. 28, n. 3, 282-299, 2020

ACHARYA, D. R. *et al*. Nanoemulsion-integrated gelatin/bacterial cellulose nanofibril-based multifunctional film: Fabrication, characterization, and application. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 257, p. 128341, 2024.

ADAMS, Robert P. **Identification of essential oils components by gas chromatography/ mass spectroscopy**. 4.1. Ed. Carol Stream: Allured, 2017.

AHMED, M.; VERMA, A. K.; PATEL, R. Physiochemical, antioxidant, and food simulant release properties of collagen-carboxymethyl cellulose films enriched with Berberis lyceum root extract for biodegradable active food packaging. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 46, n. 4, p. e16485, 2022.

AKHTER, R. *et al*. Functional characterization of biopolymer based composite film: Incorporation of natural essential oils and antimicrobial agents. **International journal of biological macromolecules**, v. 137, p. 1245-1255, 2019.

ALDANA, D. S. *et al*. Caracterización de películas comestibles a base de extractos pécticos y aceite esencial de limón Mexicano. **CyTA-Journal of Food**, v. 13, n. 1, p. 17-25, 2015.

ALMASI, H., AZIZI, S., AMJADI, S. Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and Pickering emulsion stabilized marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil. **Food Hydrocolloids**, v. 99, p. 105338, 2020.

ALSAKHAWY, S. A. *et al*. Encapsulation of thymus vulgaris essential oil in caseinate/gelatin nanocomposite hydrogel: In vitro antibacterial activity and in vivo wound healing potential. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 628, p. 122280, 2022.

ANDRADE, B. F. *et al*. S-nitrosothiols as nitrite alternatives: Effects on residual nitrite, lipid oxidation, volatile profile, and cured color of restructured cooked ham. **Meat Science**, v. 209, p. 109397, 2024.

APCHAIN, E. *et al*. A comparison between TGA, SEM-EDX and Raman spectroscopy to assess PVC plasticizer loss. **Journal of Cultural Heritage**, v. 57, p. 79-87, 2022.

ASFAW, W. A.; TAFA, K. D.; SATHEESH, N. Optimization of citron peel pectin and glycerol concentration in the production of edible film using response surface methodology. Heliyon, v. 9, n. 3, p. e13724, 2023.

BAGHERI, V. *et al*. The caucasian whortleberry extract/myrtle essential oil loaded active films: Physicochemical properties and effects on quality parameters of wrapped turkey breast meat. **Foods**, v. 11, n. 22, p. 3553, 2022.

BELLEGGIA, L. *et al*. Is there any still undisclosed biodiversity in Ciauscolo salami? A new glance into the microbiota of an artisan production as revealed by high-throughput sequencing. **Meat science**, v. 165, p. 108128, 2020.

BOLLETTA, V. *et al*. Feeding pigs with hazelnut skin and addition of a concentrated phenolic extract from olive-milling wastewaters during pork processing: Effects on salami quality traits and acceptance by the consumers. **Meat Science**, v. 213, p. 109479, 2024.

BOUKHATEM, M. N. *et al*. In vitro antifungal and topical anti-inflammatory properties of essential oil from wild-growing *Thymus vulgaris* (Lamiaceae) used for medicinal purposes in Algeria: A new source of carvacrol. **Scientia Pharmaceutica**, v. 88, n. 3, p. 1-19, 2020.

BRANDÃO, R. M. *et al*. In vitro and in vivo efficacy of poly (lactic acid) nanofiber packaging containing essential oils from Ocimum basilicum L. and Ocimum gratissimum L. against Aspergillus carbonarius and Aspergillus niger in table grapes. **Food Chemistry**, v. 400, p. 134087, 2023.

BRANDÃO, R. M. *et al*. Antifungal and physicochemical properties of Ocimum essential oil loaded in poly (lactic acid) nanofibers. **Letters in Applied Microbiology**, v. 74, n. 5, p. 765-776, 2022.

BRASIL. **Métodos de Farmacognosia**. 5. Ed. In: Mendes, J.C.C. ed. Farmacopeia Brasileira. Brasília, Brasil: Fiocruz, n. 1, p. 198-199, 2010. a

BRASIL. **Resolução RDC nº 51, de 6 de Outubro de 2010**. Dispõe sobre migração em materiais, embalagens equipamentos plásticos destinados a entrar em contato com alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, n.244, 22 dez. 2010. Seção 1, 2010. b

CANDIDO, G. S. *et al*. Bionanocomposites of pectin and pracaxi oil nanoemulsion as active packaging for butter. *Food Packaging and Shelf Life*, v. 32, p. 100862, 2022.

CARVALHO, S. Y. B. *et al*. Encapsulation of essential oils using cinnamic acid grafted chitosan nanogel: Preparation, characterization and antifungal activity. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 166, p. 902-912, 2021.

CHEN, J. *et al*. Thermal degradation and plasticizing mechanism of poly (vinyl chloride) plasticized with a novel cardanol derived plasticizer. **Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 292, p. 012008, 2018.

CHU, Y. *et al*. Fabrication, structure and properties of pullulan-based active films incorporated with ultrasound-assisted cinnamon essential oil nanoemulsions. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 25, p. 100547, 2020.

DEMARCO, F. *et al*. Effects of natural antioxidants on the lipid oxidation, physicochemical and sensory characteristics, and shelf life of sliced salami. **Food and Bioprocess Technology**, v. 15, n. 10, p. 2282-2293, 2022.

DINU, M. V. *et al*. Physically cross-linked chitosan/dextrin cryogels entrapping *Thymus vulgaris* essential oil with enhanced mechanical, antioxidant and antifungal properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 184, p. 898-908, 2021.

EDRAKI, M. *et al*. Polyvinyl chloride: chemical modification and investigation of structural and thermal properties. **Journal of Sulfur Chemistry**, v. 42*,* n. 4, p. 397-409, 2021.

EL-SAYED, S. M.; EL-SAYED, H. S. Antimicrobial nanoemulsion formulation based on thyme (Thymus vulgaris) essential oil for UF labneh preservation. **Journal of Materials Research and Technology**, v. *10,* p. 1029-1041, 2021.

ELSHREIF, M. F. *et al*. Chitosan/alginate/pectin biopolymer-based Nanoemulsions for improving the shelf life of refrigerated chicken breast. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 264, p. 130213, 2024.

FALLAH, A. A. *et al*. Low-dose gamma irradiation and pectin biodegradable nanocomposite coating containing curcumin nanoparticles and ajowan (*Carum copticum*) essential oil nanoemulsion for storage of chilled lamb loins. **Meat Science**, v. 184, p. 108700, 2022.

FERNANDES, R. D. P. P. *et al*. Assessment of the stability of sheep sausages with the addition of different concentrations of *Origanum vulgare* extract during storage. **Meat science**, v. 137, p. 244-257, 2018.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia,** v. 35, p. 1039-1042, 2011.

FONSECA-GARCÍA, A. *et al*. Preparation of a novel biodegradable packaging film based on corn starch-chitosan and poloxamers. **Carbohydrate Polymers**, v. 251, p. 117009, 2021.

GEDIKOĞLU, A.; ERÜNSAL, S. Ç. Characterization of a *Thymbra spicata* essential oil - pectin nanoemulsion, and antimicrobial activity against foodborne pathogenic bacteria. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 17, p. 3195-3206, 2023.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

GUIMARÃES, A. S. *et al*. Assessment of Japanese radish derivatives as nitrite substitute on the physicochemical properties, sensorial profile, and consumer acceptability of restructured cooked hams. **Meat Science**, v. 192, p. 108897, 2022.

HA, Y. *et al*. Effects of dry-and wet-ageing on flavor compounds and eating quality of low fat hanwoo beef muscles. **Food Science of Animal Resources**, v. 39, n. 4, p. 655-667, 2019.

JAHROMI, M.; NIAKOUSARI, M.; GOLMAKANI, M. T. Fabrication and characterization of pectin films incorporated with clove essential oil emulsions stabilized by modified sodium caseinate. **Food Packaging and Shelf Life**, v. *32,* p. 100835, 2022.

KEVIJ, H. T. *et al*. Fabrication and investigation of physicochemical, food simulant release, and antioxidant properties of whey protein isolate-based films activated by loading with curcumin through the pH-driven method. **Food Hydrocolloids**, v. 108, p. 106026, 2020.

KIM, J. *et al*. Objective measurements associated with the preferred eating qualities of fermented salamis. **Foods**, v, 10, n. 9, p. 203, 2021.

KING, D. A. *et al*. American meat science association guidelines for meat color measurement. **Meat and Muscle Biology**, v. 6, n. 4, 2023.

LIAN, H. *et al*. Effect of emulsifier hydrophilic-lipophilic balance (HLB) on the release of thyme essential oil from chitosan films. **Food Hydrocolloids**, v. 97, p. 105213, 2019.

LIU, F. *et al*. Controlled-release of tea polyphenol from gelatin films incorporated with different ratios of free/nanoencapsulated tea polyphenols into fatty food simulants. **Food Hydrocolloids**, v. 62, p. 212-221, 2017.

LIU, Y. *et al*. Antioxidant effect of yeast on lipid oxidation in salami sausage. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, p. 1113848, 2023.

LUKIC, I.; VULIC, J.; IVANOVIC, J. Antioxidant activity of PLA/PCL films loaded with thymol and/or carvacrol using scCO2 for active food packaging. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 26, p. 100578, 2020.

MAO, S. *et al*. Development of pH-responsive intelligent and active films based on pectin incorporating Schiff base (Phenylalanine/syringaldehyde) for monitoring and preservation of fruits. **Food Chemistry**, v. 435, p. 137626, 2024.

MEHRAIE, A. *et al*. New coating containing chitosan and *Hyssopus officinalis* essential oil (emulsion and nanoemulsion) to protect shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against chemical, microbial and sensory changes. **Food Chemistry: X**, v. 19, p. 100801, 2023.

MENDES, J. F. *et al*. Characterization of pectin films integrated with cocoa butter by continuous casting: Physical, thermal and barrier properties. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 28, p. 2905-2917, 2020.

MENDES, J. F. *et al*. Development of quaternary nanocomposites made up of cassava starch, cocoa butter, lemongrass essential oil nanoemulsion, and brewery spent grain fibers. **Journal of Food Science**, v. 86, n. 5, p. 1979-1996, 2021.

MOREIRA, M. N. L.; MOREIRA, F. K. V.; PRATA, A. S. Effect of adding micronized eggshell waste particles on the properties of biodegradable pectin/starch films. **Journal of Cleaner Production**, v. 343, p. 140229, 2024.

MUGWAGWA, L. R.; CHIMPHANGO, A. F. Enhancing the functional properties of acetylated hemicellulose films for active food packaging using acetylated nanocellulose reinforcement and polycaprolactone coating. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 24, p. 100481, 2020.

MUSA, M. N. *et al*. Development and evaluation of exemestane-loaded lyotropic liquid crystalline gel formulations. **BioImpacts**, v. 7, p. 4, 227-239, 2017.

NISAR, T. *et al*. Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. **International journal of biological macromolecules**, v. 106, p. 670-680, 2018.

NISSEN, L. *et al*. Effects of the replacement of nitrates/nitrites in salami by plant extracts on colon microbiota. **Food Bioscience**, v. 53, p. 102568, 2023.

NOBILE, M. *et al*. Bio-based packaging combined to protective atmosphere to manage shelf life of salami to enhance food safety and product quality. **Meat Science**, v. 207, p. 109366, 2024.

NORCINO, L. B. *et al*. 2020 Pectin films loaded with copaiba oil nanoemulsions for potential use as bio-based active packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 106, p. 105862, 2020.

PANDEY, V. K. *et al*. Bioactive properties of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil nanoemulsion: A comprehensive review. **Heliyon**, v. 10, p. e22437, 2023.

PANWAR, A. *et al*. Nanoemulsion based edible coatings for quality retention of fruits and vegetables-decoding the basics and advancements in last decade. **Environmental Research**, v. 240, p. 117450, 2024.

PEIXOTO, E. C. Antimicrobial active packaging for meat using thyme essential oil (*Thymus vulgaris*) encapsulated on zein ultrafine fibers membranes. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 51, p. 102778, 2023.

PIÑEROS-HERNANDEZ, D. *et al*. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. **Food hydrocolloids**, v. 63, p. 488-495, 2017.

SHALABY, K. *et al*. Enhanced full-thickness wound healing via Sophora gibbosa extract delivery based on a chitosan/gelatin dressing incorporating microemulsion. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 47, n. 2, 215-224, 2021.

SHKODRA-PULA, B. *et al*. Effect of surfactant on the size and stability of PLGA nanoparticles encapsulating a protein kinase C inhibitor. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 566, p. 756-764, 2019.

SILVA, P. C. *et al*. Development of bionanocomposites of pectin and nanoemulsions of carnauba wax and neem oil pectin/carnauba wax/neem oil composites. **Polymer Composites**, v. 41, n. 3, p. 858-870, 2020.

SILVA, P. C. *et al*. Physical-mechanical and antifungal properties of pectin nanocomposites/neem oil nanoemulsion for seed coating. **Food Biophysics**, v. 14, p. 456-466, 2019.

SIRACUSA, V. *et al*. Characterization of active edible films based on citral essential oil, alginate and pectin. **Materials**, v. 11, n. 10, p. 1980, 2018.

SOUZA, R. D. *et al*.Active packaging: Development and characterization of polyvinyl alcohol (PVA) and nitrite film for pork preservation. **Food Chemistry**, v. 437, p. 137811, 2024.

SREE, K. B. *et al*. Preparation and characterization of pure and copper-doped PVC films. **Journal of Polymer Engineering**, v. 37, n. 1, p. 83-92, 2017.

SUN, J.; WEI, Z.; XUE, C. Preparation and characterization of multifunctional films based on pectin and carboxymethyl chitosan: Forming microchambers for high-moisture fruit preservation. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 37, p. 101073, 2023.

TEIXEIRA, M. L. *et al*. Evaluation of the antioxidant activity of the essential oils from *Cantinoa carpinifolia* (Benth.) and *Lippia origanoides* (Kunth.) by various methods. **Journal of Essential Oil Research**, *v. 35, n. 2*, p. 143-153, 2023.

THOMAS, S. P. Polyvinyl chloride (PVC)/Halloysite (HNT) nanocomposites: Thermal stability and structural characterization studies. **Journal of King Saud University-Engineering Sciences**, 2023.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatogr A,** v. 11, p. 463-471, 1963.

VARGA-VISI, E. *et al*. Effects of surface treatment with thymol on the lipid oxidation processes, fatty acid profile and color of sliced salami during refrigerated storage. **Foods**, v. 11, n. 23, p. 3917, 2022.

VILARINHO, F. *et al*. Monitoring lipid oxidation in a processed meat product packaged with nanocomposite poly (lactic acid) film. **European Polymer Journal**, v. 98, p. 362-367, 2018

Xu, Y. *et al*. Antimicrobial and controlled release properties of nanocomposite film containing thymol and carvacrol loaded UiO-66-NH2 for active food packaging. **Food Chemistry**, v. 404, p. 134427, 2023.

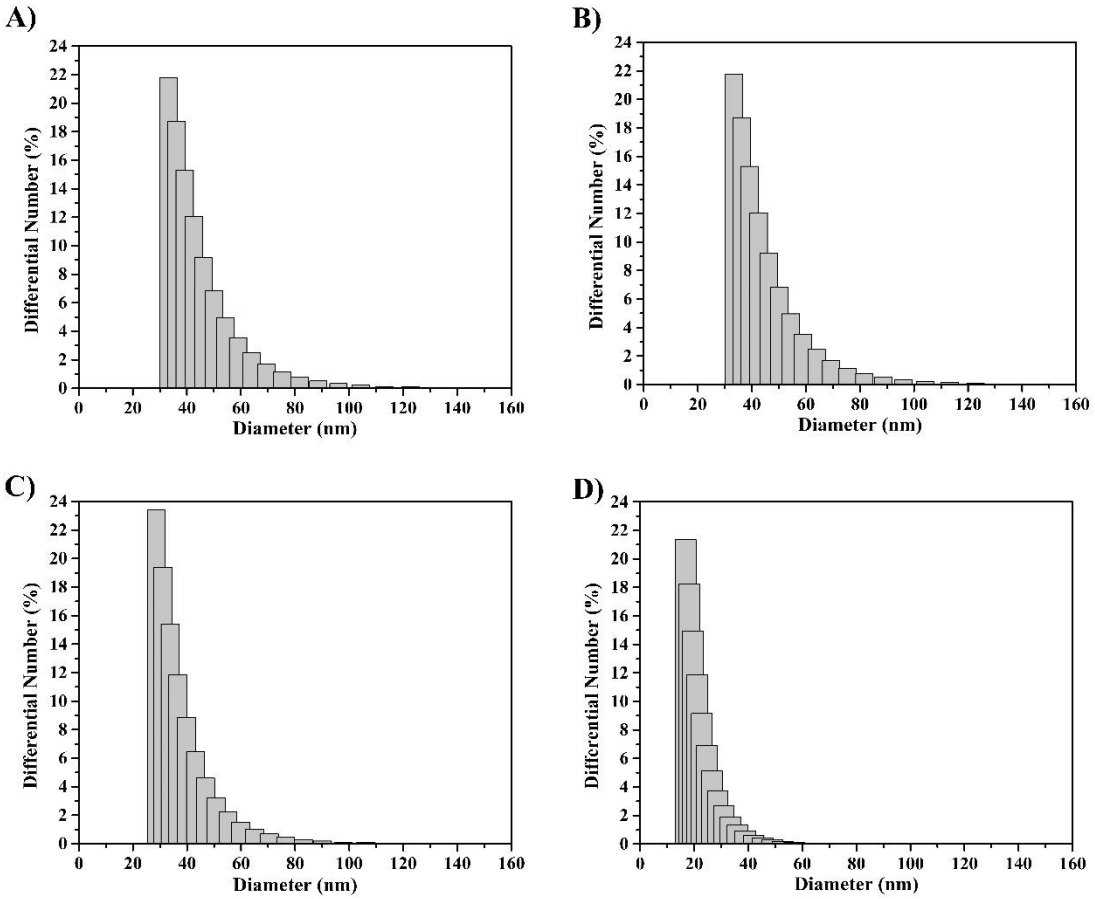
ZAKI, R. M. *et al*. Formulation of chitosan-coated brigatinib nanospanlastics: optimization, characterization, stability assessment and in-vitro cytotoxicity activity against H-1975 cell lines. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 3, p. 348, 2022.

ZANOTTO, A. W. Enhanced antimicrobial and antioxidant capacity of *Thymus vulgaris*, *Lippia sidoides*, and *Cymbopogon citratus* emulsions when combined with mannosylerythritol a lipid biosurfactant. **Food Research International**, v. 163, p. 112213, 2023.

ZHAO, R. The physiochemical and preservation properties of anthocyanidin/chitosan nanocomposite-based edible films containing cinnamon-perilla essential oil pickering nanoemulsions. **LWT - Food Science and Technology**, v. 153, p. 112506, 2022.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Figura S1 – DLS das emulsões.



Legenda: A) Emulsão_sonificada_Tw = emulsão de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando o surfactante Tween 80 produzida com agitação mecânica e sonicador de ponta ultrassônica, B) Emulsão_Tw = emulsão de óleo essencial de *T. vulgaris* produzida com agitação mecânica utilizando o surfactante Tween 80, C) Emulsão_sonificada_Pl = emulsão de óleo essencial de *T. vulgaris* utilizando o surfactante Pluronic F127 produzida com agitação mecânica e sonicador de ponta ultrassônica e D)Emulsão_Pl = emulsão de óleo essencial de *T. vulgaris* produzida com agitação mecânica utilizando o surfactante Pluronic F127.

Fonte: Do autor (2024).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os óleos essenciais de *Thymus vulgaris*, *Ocimum basilicum* e *Salvia officinalis* são promissores de serem aplicados em diversas áreas, podendo utilizá-los associados a produtos sintéticos, objetivando-se reduzir o uso destes últimos, uma vez que os óleos essenciais estudados mostraram possuir atividades antioxidante, antibacteriana e inseticida.

Os filmes de pectina incorporados com emulsões sonificadas de óleo essencial de *T. vulgaris* são bastante promissores para serem usados na forma de embalagem ativa para produtos cárneos e outros alimentos susceptíveis à oxidação, uma vez que os compostos ativos, presentes no óleo essencial, são liberados de maneira controlada, sendo uma alternativa promissora para minimizar os efeitos ambientais adversos.

Entretanto, para serem aplicados no dia a dia, são necessários mais estudos sobre diferentes concentrações das nanoemulsões nos filmes e também a realização das análises microbiológica sobre patógenos de origem alimentar, toxicológica e sensorial, avaliando se o odor e o sabor do óleo essencial de *T. vulgaris* não são um fator que influencie na aceitação do alimento.