INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO TRIÂNGULO MINEIRO - *Campus* Uberaba
MESTRADO PROFISSIONAL EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ANA CAROLINA ESTEVAM DOS SANTOS FRANGE

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ANTIMICROBIANA DE AZEITE DE OLIVA EXTRAVIRGEM ENRIQUECIDO COM ÓLEOS ESSENCIAIS

Uberaba-MG
2025

ANA CAROLINA ESTEVAM DOS SANTOS FRANGE

AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E ANTIMICROBIANA DE AZEITE DE OLIVA EXTRAVIRGEM ENRIQUECIDO COM ÓLEOS ESSENCIAIS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Linha de Pesquisa: Tecnologia de processos e novos produtos alimentícios.

Orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Scalon Cunha.

Uberaba-MG
2025

Ficha Catalográfica elaborada pelo Setor de Referência do IFTM – *Campus* Uberaba-MG

F851a

Frange, Ana Carolina Estevam dos Santos
Avaliação físico-química e antimicrobiana de azeite de oliva extravirgem enriquecido com óleos essenciais / Ana Carolina Estevam dos Santos Frange. – 2025.
93 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Scalon Cunha.
Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto Federal do Triângulo Mineiro- *Campus* Uberaba- MG, 2025.

1. Compostos fenólicos. 2. Estabilidade oxidativa. 3. Atividade antimicrobiana. 4. CG-EM. 5. Conservantes naturais. I. Cunha, Luís Carlos Scalon. II. Título.

CDD 664.001579

Elaborada pela Bibliotecária Sandra Mara Trindade CRB6-2476

INSTITUTO FEDERAL
Triângulo Mineiro

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO TRIÂNGULO MINEIRO

ANA CAROLINA ESTEVAM DOS SANTOS FRANGE

"Avaliação físico-química e antimicrobiana de azeite de oliva extra virgem enriquecido com óleos essenciais"

FOLHA DE APROVAÇÃO – DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Data da aprovação: 12/12/2025

MEMBROS COMPONENTES DA BANCA EXAMINADORA:

Presidente e Orientador(a):	**Prof. Dr. Luís Carlos Scalon Cunha** IFTM - Campus Uberaba
Membro Titular	**Prof. Dr. Lucas Arantes Pereira** IFTM - Campus Uberaba
Membro Titular	**Drª. Luciene Lacerda Costa** IFTM - Campus Uberaba

Local: Google meet link: https://meet.google.com/ras-ewjp-nis

LUIS CARLOS SCALON CUNHA
PROFESSOR DO ENSINO BÁSICO, TÉCNICO E TECNOLÓGICO

INSTITUTO FEDERAL
Triângulo Mineiro

Documento assinado eletronicamente por LUIS CARLOS SCALON CUNHA, PROFESSOR DO ENSINO BÁSICO, TÉCNICO E TECNOLÓGICO, em 12/12/2025, às 11:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 4º, § 3º, do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

LUCAS ARANTES PEREIRA
PROFESSOR DO ENSINO BÁSICO, TÉCNICO E TECNOLÓGICO

INSTITUTO FEDERAL
Triângulo Mineiro

Documento assinado eletronicamente por LUCAS ARANTES PEREIRA, PROFESSOR DO ENSINO BÁSICO, TÉCNICO E TECNOLÓGICO, em 12/12/2025, às 11:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 4º, § 3º, do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

LUCIENE LACERDA COSTA

TÉCNICO DE LABORATÓRIO/ÁREA

INSTITUTO FEDERAL
Triângulo Mineiro

Documento assinado eletronicamente por LUCIENE LACERDA COSTA, TÉCNICO DE LABORATÓRIO/ÁREA, em 12/12/2025, às 12:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 4º, § 3º, do Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://iftm.edu.br/autenticacao/ informando o código verificador **A5EAD7F** e o código CRC **4B148EDB**.

Referência: NUP: 23200.015604/2025-66 DOCS nº 0000790987

Á ti, meu *"favo de mel*", meu maior incentivador, aos teus olhinhos atentos, que sempre buscaram os meus em meio às minhas ausências; à tua preocupação genuína com meu cansaço. Foi no calor dos teus bracinhos pequenos que encontrei refúgio e no teu poço infinito de carinho resgatei forças para sempre seguir adiante.

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, a ti, meu Pai maior, por guiar meus passos, iluminar meu caminho e fortalecer-me nos dias mais difíceis. "... *até aqui nos ajudou o Senhor*" (1 Sm 7:12).

Aos meus filhos, Matheus Estevam e Davi Estevam, fontes de amor e inspiração. Que esta conquista os encoraje a sonhar alto e a sempre confiar na persistência e no caminho da educação.

Ao meu esposo, Marco Túlio Frange, pela parceria constante e por transformar cada realização minha em um propósito nosso.

Aos meus pais, que mesmo com poucos recursos sempre valorizaram a educação e me mostraram as veredas do esforço, da retidão, da fé e do caráter.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luís Carlos Scalon Cunha, por sua sabedoria, incentivo e inspiração, sua orientação ultrapassou o âmbito acadêmico, tornando-se aprendizado para a vida.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro, pela infraestrutura, suporte técnico e acadêmico disponibilizados para a realização deste estudo, e à Empresa Brasileira de Pesquisa e Inovação Industrial (EMBRAPII) pelo apoio e incentivo ao desenvolvimento científico.

À equipe Docente, *Campus* Uberaba e Uberlândia, vocês contribuíram de forma marcante para minha formação. Em especial, à Profa. Dra. Fernanda Raguiante, pela sua significativa contribuição no ambiente da microbiologia de alimentos, e ao Prof. Dr. Lucas Arantes, pelo seu trabalho notável como Professor e Coordenador do Programa.

Meus colegas da 13ª Turma da PGCTA, pela parceria e amizade ao longo dessa jornada, com carinho as amiga Débora Magalhães de Souza Silva e Noemi Teles Quintino Alves.

À Dra. Luciene Lacerda Costa e Ms. Cintia Cristina de Oliveira pela colaboração nas análises físico-químicas e microbiológicas realizadas nos laboratórios de Bromatologia e de Microbiologia do IFTM – *Campus* Uberaba

Aos Pós-Doc Mário Machado Ferreira e Arlene Bispo Nossol pelas análises de CG-EM realizadas no Laboratório de Nanobiotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia - UFU.

Aos colegas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM, em especial Ms. Paula Fernandes dos Santos, Ms. Priscila Andreja Oliveira, Ms. Kátia Aparecida da Silva, Ms. Celso Tadeu dos Santos, pelas contribuições técnicas, compreensão e apoio constante.

Ao meu gestor, Prof. Dr. Marcos de Lucca Moreira Gomes, por proporcionar um ambiente de trabalho favorável à conclusão deste percurso e ao Prof. Dr. Guilherme Vannucchi Portari, pelas ideias instigadoras e pelas contribuições que tanto enriqueceram este estudo.

Por fim, a todos os colegas, amigos e familiares que, embora não citados nominalmente, fazem parte da minha caminhada, deixo registrado meu profundo e fraterno agradecimento.

Suba o primeiro degrau com fé.
Não é necessário que você veja toda a escada.
Apenas dê o primeiro passo.
Martin Luther King Jr (1929 - 1968)

RESUMO

Os alimentos com alegações funcionais têm ganhado destaque na ciência de alimentos devido aos seus potenciais benefícios à saúde, onde o azeite de oliva extravirgem (AOE) destaca-se por sua composição rica em ácidos graxos e compostos fenólicos com potencial antioxidante e antimicrobiano. A adição de óleos essenciais (OEs) ao AOE pode potencializar as propriedades individuais destes, surgindo como alternativa natural para melhorar a qualidade, segurança e vida de prateleira dos alimentos. Assim, este estudo teve como objetivo caracterizar a composição química por cromatografia gasosa acoplada ao CG-EM dos OEs de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), limão siciliano (*Citrus limon*) e orégano (*Origanum vulgare*); investigar a atividade antimicrobiana das formulações utilizando as técnicas de difusão em disco, concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) e avaliar os índices de acidez, peróxidos e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). O óleo essencial de alecrim (OEA) apresentou como classes predominantes monoterpenos oxigenados (63,24 %) e monoterpenos hidrocarbonetos (20,23 %). Os compostos majoritários encontrados foram eucaliptol (1,8-cineol), cânfora e α-pineno. No óleo essencial de limão siciliano (OELS) a classe de metabólitos predominante foi constituída de monoterpenos hidrocarbonetos (76,62 %), sendo D-limoneno, β-pineno e γ-terpineno os compostos majoritários. Já no óleo essencial de orégano (OEO), monoterpenos oxigenados (61,0 %) e monoterpenos hidrocarbonetos (36,0 %) foram às classes predominantes. Carvacrol, seguido por *p*-cimeno, γ-terpineno e timol foram os componentes majoritários. A atividade microbiológica, a adição do OEO ao AOE promoveu inibição do crescimento de todas as bactérias testadas, tanto pelo método de difusão em disco quanto pelo método de microdiluição em caldo. As amostras de AOE que receberam OEA e OELS não apresentaram atividade inibitória nas concentrações testadas em nenhum dos métodos utilizados contra as cepas pesquisadas. As análises físico-químicas evidenciaram que a adição dos OEs ao AOE promoveu efeitos se comparadas ao AOE puro. Para índice de acidez, todos os azeites enriquecidos com os OEs apresentaram valores inferiores ao limite estabelecido para o AOE; para o índice de peróxidos, o OEA apresentou o melhor desempenho antioxidante; no índice TBARS, a adição do OEA e OEO demonstraram maior eficácia no controle da oxidação secundária enquanto o OELS não apresentou evidência de proteção oxidativa nas concentrações testadas. O estudo demonstrou que AOE enriquecido com OEs representa uma alternativa promissora para a obtenção de produtos com maior estabilidade oxidativa e capacidade antibacteriana, com potenciais benefícios à saúde.

Palavras-chave: compostos fenólicos; estabilidade oxidativa; atividade antimicrobiana; CG-EM; conservantes naturais.

ABSTRACT

Foods with functional claims have gained prominence in food science due to their potential health benefits, with extra virgin olive oil (AOE) standing out for its rich composition of fatty acids and phenolic compounds with antioxidant and antimicrobial potential. The addition of essential oils (OEs) to AOE can enhance their individual properties, emerging as a natural alternative to improve the quality, safety, and shelf life of foods. Thus, this study aimed to characterize the chemical composition by GC-MS of OEs from rosemary (*Rosmarinus officinalis*), Sicilian lemon (*Citrus limon),* and oregano (*Origanum vulgare*); to investigate the antimicrobial activity of the formulations using disc diffusion, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) techniques; and to evaluate the acidity, peroxide, and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) indices. Rosemary essential oil (OEA) presented oxygenated monoterpenes (63.24%) and hydrocarbon monoterpenes (20.23%) as the predominant classes. The major compounds found were eucalyptol (1,8-cineole), camphor, and α-pinene. In Sicilian lemon essential oil (OELS), the predominant metabolite class consisted of hydrocarbon monoterpenes (76.62%), with D-limonene, β-pinene, and γ-terpinene being the major compounds. In oregano essential oil (OEO), oxygenated monoterpenes (61.0%) and hydrocarbon monoterpenes (36.0%) were the predominant classes. Carvacrol, followed by p-cymene, γ-terpinene, and thymol were the major components. In terms of microbiological activity, the addition of OEO to AOE inhibited the growth of all bacteria tested, both by the disk diffusion method and by the broth microdilution method. The AOE samples that received OEA and OELS did not show inhibitory activity at the concentrations tested in any of the methods used for the strains studied. Physical-chemical analyses showed that the addition of OEs to AOE promoted effects when compared to pure AOE. For the acidity index, all olive oils enriched with OEs presented values below the limit established for AOE; for the peroxide index, OEA presented the best antioxidant performance; in the TBARS index, the addition of OEA and OEO demonstrated greater efficacy in controlling secondary oxidation, while OELS showed no evidence of oxidative protection at the concentrations tested. The study demonstrated that EVOO enriched with EOs represents a promising alternative for obtaining products with greater oxidative stability and antibacterial capacity, with potential health benefits.

Keywords: phenolic compounds; oxidative stability; antimicrobial activity; CG-EM; natural preservatives.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - *Olea europaea* L. 20
Figura 2 - *Rosmarinus officinalis* 27
Figura 3 - Limão siciliano (fruto) 29
Figura 4 - Folhas de orégano 30
Figura 5 - Cromatógrafo gasoso acoplado a um detector de massas Agilent® 40
Figura 6 - Representação esquemática do preparo dos tratamentos 41
Figura 7 - Representação esquemática da difusão de disco 42
Figura 8 - Representação esquemática de microdiluição em caldo 43
Figura 9 - (A) Mudança na coloração, (B) na titulação volumétrica 45
Figura 10 - (A) Mudança na coloração, (B) na titulação volumétrica 46
Figura 11 - (A) Amostras em Banho-Maria; (B) Separação do sobrenadante/sedimento 47
Figura 12 - Cromatograma do OEA obtido por CG-EM 49
Figura 13 - Compostos majoritários no OEA 52
Figura 14 - Cromatograma do OELS obtido por CG-EM 53
Figura 15 - Compostos majoritários no OELS 56
Figura 16 - Cromatograma do OEO obtido por CG-EM 57
Figura 17 - Compostos majoritários no OEO 59

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Classes dos metabólitos anotadas por CG-EM no OEA 51
Gráfico 2 - Classes dos metabólitos anotadas por CG-EM no OELS. 55
Gráfico 3 - Classes dos metabólitos anotadas por CG-EM no OEO. 58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tipos de azeite de acordo com a acidez 22
Tabela 2 - Surtos de DTHA no Brasil entre os anos de 2014 a 2023 35
Tabela 3 - Características dos OEs utilizados 38
Tabela 4 - Compostos anotados no OEA por CG-EM 50
Tabela 5 - Compostos anotados no OELS por CG-EM 54
Tabela 6 - Compostos anotados no OEO por CG-EM 57
Tabela 7 - Resultados do ensaio de difusão em disco 60
Tabela 8 - CIM e CBM dos azeites incorporados com OEs 61
Tabela 9 - Índice de acidez (mg KOH/g) dos azeites incorporados com OEs 64
Tabela 10 - Índice de peróxidos (mEq/kg) dos azeites aromatizados com OEs 65
Tabela 11 - Valores de TBARS (mg MDA/kg) dos azeites incorporados com OEs 67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOE	Azeite de oliva extravirgem
AOE+OEA	Azeite de oliva extravirgem incorporado com óleo essencial de alecrim.
AOE+OELS	Azeite de oliva extravirgem incorporado com óleo essencial de limão siciliano.
AOE+OEO	Azeite de oliva extravirgem incorporado com óleo essencial de orégano.
ATCC	*American Type Culture Collection*
CBM	Concentração bactericida mínima
CBS	Comissão de biossegurança em saúde
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CIM	Concentração inibitória mínima
COI	Conselho Oleícola Internacional.
DTHA	Doenças de transmissão hídrica e alimentar
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
IN	Instrução normativa
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
MDA	Malondialdeido
MS	Ministério da saúde
OE	Óleo essencial
Oes	Óleos essenciais
pH	Potencial hidrogeniônico
SINAN	Sistema de informação de agravos de notificação do Ministério da saúde
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 17
2 OBJETIVOS 19
2.1 Objetivo geral 19
2.2 Objetivos específicos 19
3 REVISÃO DA LITERATURA 20
3.1 Azeites de oliva 20
3.1.1 Classificação dos azeites de oliva 22
3.1.2 Parâmetros químicos e sensoriais dos azeites de oliva extravirgem 23
3.2 Óleos essenciais 23
3.2.1 Principais constituintes dos OEs 25
3.2.2 Métodos de extração de OEs 25
3.3 OEs selecionados 27
3.3.1 Alecrim (Rosmarinus officinalis) 27
3.3.2 Limão siciliano (Citrus limon) 28
3.3.3 Orégano (Origanum vulgare) 30
3.4 Aplicações dos OEs na alimentação 32
3.5 Microrganismos causadores de doenças de transmissão hídrica e alimentar 34
3.5.1 Escherichia coli 36
3.5.2 Staphylococcus aureus 37
3.5.3 Salmonella spp. 37
4 MATERIAIS E MÉTODOS 38
4.1 Amostras 38
4.1.1 Azeite de oliva extravirgem 38
4.1.2 Amostras dos OEs 38
4.2 Caracterização dos OEs por CG-EM 39
4.3 Preparo dos tratamentos 40
4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana 41
4.4.1 Cepas microbiológicas 41
4.4.2 Discos de papel 41
4.4.3 Técnica de difusão de disco 41

4.4.4 Determinação da CIM e CBM 42
4.5 Análises físico-químicas 44
4.5.1 Índice de acidez 44
4.5.2 Índice de peróxido 45
4.5.3 Determinação do índice de TBARS 46
4.6 Análises estatísticas 48
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO 49
5.1 Análises dos OEs por CG-EM 49
5.1.1 Anotação dos constituintes do OEA por CG-EM 49
5.1.2 Anotação dos constituintes do OELS por CG-EM 53
5.1.3 Anotação dos constituintes do OEO por CG-EM 57
5.2 Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em disco 59
5.3 Avaliação da atividade antibacteriana pelo método da microdiluição em caldo 60
5.4 Análises dos parâmetros físico-químicos de qualidade 64
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS 70
REFERÊNCIAS 72
ANEXO A - LAUDO TÉCNICO DO OEA 86
ANEXO B - LAUDO TÉCNICO DO OELS 87
ANEXO C - LAUDO TÉCNICO DO OEO 88
ANEXO D - COMPOSIÇÃO DO OEA 89
ANEXO E - COMPOSIÇÃO DO OELS 90
ANEXO F - COMPOSIÇÃO DO OEO 91
ANEXO G - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DO OEA 92
ANEXO H - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DO OELS 93
ANEXO I - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DO OEO 94

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos com alegações funcionais têm sido tema de grande relevância em eventos e pesquisas na área de ciência e tecnologia de alimentos. Esses alimentos foram desenvolvidos em diversas categorias, destacando-se nos mercados de laticínios, confeitaria, bebidas, panificação e alimentos para bebês (Cestonaro; Stefenon; Bainy, 2020).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), alimentos com propriedades funcionais são aqueles que, quando consumidos como parte da dieta habitual, podem promover benefícios à saúde sem representar risco ao consumidor. Essas propriedades estão relacionadas à manutenção das funções fisiológicas e à contribuição de determinados nutrientes ou compostos bioativos para a redução de fatores de risco associados a enfermidades. No entanto, a legislação vigente não permite atribuir a esses alimentos alegações de cura de doenças (Brasil, 2021).

A importância do consumo de alimentos funcionais de origem vegetal ricos em componentes bioativos para promover uma dieta saudável tem sido tema de pesquisas científicas, devido às suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antivirais, antitumorais, antimicrobianas, antimutagênicas, antidiabéticas, anti-hipertensivas e anti-envelhecimento (Machado *et al*., 2021).

Entre os alimentos com alegações funcionais, o Azeite de oliva extravirgem (AOE) destaca-se não apenas pelo seu valor nutricional, mas também por sua composição química. É rico em ácidos graxos monoinsaturados, principalmente ácido oleico (56 % - 84 %), além de conter ácidos graxos poli-insaturados essenciais, como o ácido linoleico (3,5 % - 21 %) e o ácido linolênico (<1,5 %). Além desses constituintes, o AOE contém compostos fenólicos, tais como epicatequina, hidroxitirosol e tirosol, que são reconhecidos por suas propriedades antioxidantes e quimio-preventivas. Outros antioxidantes relevantes, como oleaceína, oleocantal, apigenina e luteolina, também contribuem para os efeitos benéficos do AOE (Lanza; Ninfali, 2020). O AOE é uma mistura lipossolúvel obtida pela polpa e pelas sementes das azeitonas (olivas) por meio da prensagem, seguindo condições térmicas controladas, mantendo características sensoriais e físico-químicas inalteradas segundo a COI - *International Olive Council* (2020).

A azeitona é o fruto originário da oliveira (*Olea europaea* L.), uma árvore pertencente à família das oleáceas que tem sido cultivada por milênios, sendo especialmente comum na região oriental do Mediterrâneo (Coutinho *et al*., 2009). A espécie foi introduzida no Brasil por imigrantes europeus, com áreas de plantio principalmente nas regiões Sul e Sudeste,

resultando em azeites de excelente qualidade, premiados e reconhecidos internacionalmente (Oliveira; Antunes; Schuch, 2006).

O AOE destaca-se por apresentar relevantes atividades bioquímicas e propriedades biológicas, descritas ao longo do tempo, as quais fundamentam suas alegações funcionais, sugerindo que tais características estão associadas à sua composição química, especialmente aos compostos bioativos, que contribuem para os efeitos benéficos do consumo regular de azeite à saúde humana (Gorzynik-Dębicka *et al*., 2018). O AOE também é mencionado como alimento natural com potencial para inibir o crescimento de bactérias patogênicas, como *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Cicerale *et al*., 2012; Laincer *et al*., 2014).

Alguns estudos evidenciam que o uso do azeite de oliva, com a adição de óleos essenciais (OEs) extraídos de ervas e especiarias (azeite aromatizado), pode agregar sabor e potencializar suas propriedades biológicas, como antimicrobiana, antioxidante e anti-inflamatória, além de ser utilizado em diversos preparos culinários (Hanif *et al*., 2019; Wilson, 2018). Destaca-se ainda que a adição de OEs ao AOE pode reduzir o processo de oxidação e, devido ao ganho do potencial antioxidante, pode proporcionar efeito de proteção contra a deterioração dos parâmetros de qualidade do azeite (Asensio; Nepote; Grosso, 2013).

Nas plantas, os OEs desempenham um papel crucial na proteção contra predadores e na atração de polinizadores. São sintetizados pelo metabolismo especializado dos vegetais e armazenados em células secretoras e glandulares, conferindo características distintas como aroma e cor às diferentes espécies (Tisserand; Young, 2013). Os OEs apresentam uma infinidade de aplicações e em países como o Brasil, rico em biodiversidade, surgem como oportunidade para um mercado promissor, graças à abundante e rica flora local (Bizzo, 2020).

A utilização do OE associado ao AOE como opção natural nos preparos alimentícios apresenta potencial como agente antimicrobiano, podendo contribuir para a segurança dos alimentos, prolongar a vida de prateleira e reduzir a dependência de conservantes sintéticos.

Nesse contexto, este estudo teve como objetivo caracterizar a composição química por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) dos OEs de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), limão siciliano (*Citrus limon*) e orégano (*Origanum vulgare*); investigar a atividade antimicrobiana de AOE enriquecidos com os OEs de frente a bactérias associadas a surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHA), ainda avaliar os índices de acidez, peróxidos e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) das formulações.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Caracterizar a composição química dos OEs de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), limão siciliano (*Citrus limon*) e orégano (*Origanum vulgare*) por CG-EM; avaliar a atividade antimicrobiana e parâmetros físico-químicos de qualidade dos AOE enriquecidos com os OEs.

2.2 Objetivos específicos

a) identificar a composição química dos OEs adicionados ao azeite por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM);
b) avaliar a atividade antimicrobiana dos AOE enriquecidos com OEs, pelos métodos de difusão em disco e microdiluição em caldo, frente às bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimurium* associadas a surtos de DTHA;
c) determinar os parâmetros físico-químicos do AOE e de suas formulações, por meio da análise dos índices de acidez, índices de peróxidos e TBARS.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Azeites de oliva

A oliveira (*Olea europaea* L.) (Figura 1) é a única frutífera de sua espécie que produz azeitonas (olivas) adequadas como matéria-prima para a extração do azeite. Em diferentes estágios de maturação confere ao produto características sensoriais distintas, influenciadas também pelo tipo de solo, clima, condições de colheita, armazenamento e pela microbiota do fruto agregada ao produto final (Cayuela *et al*., 2015).

Figura 1 - *Olea europaea* L.



Fonte: Epamig, 2023.

No Brasil, embora o cultivo de oliveiras ainda conviva com desafios, ele demonstra um potencial significativo, graças ao aperfeiçoamento de técnicas de manejo e à adaptação das plantas às características do solo e do clima, o que já permite a produção de azeites extravirgens premiados. As regiões mais adequadas para esse cultivo concentram-se principalmente no Sul e no Sudeste, especialmente no Rio Grande do Sul e nas áreas mais altas da Serra da Mantiqueira, entre São Paulo e Minas Gerais, onde as condições climáticas favorecem o bom desenvolvimento das oliveiras e a obtenção de frutos de qualidade (Silva, 2022).

O AOE é um alimento com alegações funcionais que possui vários constituintes químicos, dentre eles, destacam-se os lipídeos, ácidos graxos saturados e insaturados, sendo ácido oleico majoritário, seguido por ácido palmítico, ácido linoleico, ácido esteárico e outros, além de esteróis, tocoferóis, carotenoides, carboidratos e compostos fenólicos. Devido à

presença de todos esses compostos, o AOE é relacionado com várias propriedades biológicas que promovem benefícios à saúde tais como antioxidante, anti-inflamatória, cardioprotetora, antitumoral, antimicrobiana e neuroprotetora (Kiritsakis; Keceli, 2023; Jimenez-Lopes *et al*., 2020).

Além de todos esses benefícios mencionados anteriormente, o AOE quando comparado a outras gorduras alimentares, possui efeito superior no controle de biomarcadores clínicos auxiliando na redução do LDL-c (Lipoproteína de Baixa Densidade - Colesterol) e da pressão arterial; no aumento do HDL-c (Lipoproteína de Alta Densidade - Colesterol) além de auxiliar no controle dos níveis glicêmicos e no controle do peso (Flynn *et al*., 2013).

O azeite é considerado um recurso terapêutico desde a Antiguidade, sendo citado no Papiro de Ebers (c. 1550 a.C.), um dos tratados médicos mais antigos e importantes que se conhecem, como tratamento para gastrite, queimaduras, feridas e cuidados da pele. Figuras históricas como Cleópatra empregavam-no em pomadas cosméticas, enquanto autores clássicos, como Homero, o exaltavam como “ouro líquido” por seu amplo uso medicinal, que incluía desde o cuidado de lesões cutâneas até o alívio de distúrbios digestivos (Vujovic, 2025).

Nazzaro *et al*. (2019) destacaram o potencial antimicrobiano de três azeites de oliva extravirgens da região da Campânia, no sul da Itália, obtidos por meio da prensagem à frio das variedades *Ruvea antica, Ogliarola* e *Ravece da Olea europaea.* O teste abrangeu quatro patógenos Gram-positivos *(Bacillus cereus, S. aureus, Enterococcus faecalis e Listeria innocua*) e dois Gram-negativos (*E. coli e Pseudomonas aeruginosa*). Os resultados evidenciaram a presença de propriedades antibacterianas nos azeites testados, atribuindo tal eficácia à fração de polifenóis encontrados em cada amostra.

Musa *et al*. (2022) conduziram uma investigação sobre a atividade antibacteriana de compostos fenólicos extraídos do azeite espanhol Borges TM contra bactérias associadas a doenças periodontais. O estudo avaliou cepas bacterianas, incluindo *Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*. Por meio de testes de concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), os resultados indicaram que os compostos fenólicos do azeite manifestaram efeitos antibacterianos sobre os patógenos periodontais testados, destacando-se pela maior eficácia contra as bactérias Gram-positivas.

Janakat *et al*. (2019) estudaram a atividade antimicrobiana do extrato de murca (borra de azeite) em relação a um conjunto de patógenos associados a alimentos. O estudo revelou

que o extrato apresenta atividade antimicrobiana contra *Listeria monocytogenes, S. aureus, E. coli e Salmonella enteritidis*. Essa propriedade antimicrobiana foi atribuída à presença de compostos fenólicos no azeite de oliva.

3.1.1 Classificação dos azeites de oliva

A classificação dos diferentes tipos de azeite de oliva (Tabela 1) é determinante para sua comercialização e é influenciada pelo estado e momento da extração das azeitonas. Essa classificação resulta na distinção de diferentes tipos de azeite virgem, os quais podem ser encontrados disponíveis no mercado. A acidez do azeite é uma medida da quantidade de ácidos graxos livres presentes e é um indicador da qualidade do azeite. Menores níveis de acidez geralmente indicam um azeite de melhor qualidade e sabor (Brasil, 2012).

Tabela 1 - Tipos de azeite de acordo com a acidez

Tipo de azeite	Acidez máxima (%)	Descrição
Azeite extravirgem	≤ 0,8 %	Obtido diretamente de azeitonas por processos mecânicos. Tem sabor e aroma intensos, sem defeitos perceptíveis.
Azeite virgem	≤ 2,0 %	Também obtido diretamente de azeitonas por processos mecânicos, mas pode apresentar ligeiros defeitos sensoriais.
Azeite virgem corrente	≤ 3,3 %	Possui defeitos mais perceptíveis, usado menos frequentemente para consumo direto, mais comum em preparações culinárias.
Azeite lampante	> 3,3 %	Não é adequado para consumo humano sem antes ser refinado. É utilizado principalmente para a fabricação de outros tipos de azeite refinados.
Azeite refinado	≤ 0,3 %	Obtido a partir do azeite virgem (não extravirgem) por meio de processos de refinação que eliminam impurezas e defeitos sensoriais. Tem sabor e aroma neutros.
Azeite (Puro ou Comum)	Variável	Mistura de azeite refinado com azeite virgem ou extravirgem para melhorar o sabor. A acidez pode variar, mas geralmente é inferior a 1,5 %.

Fonte: COI, 2024.

3.1.2 Parâmetros químicos e sensoriais dos azeites de oliva extravirgem

A Instrução Normativa nº 1/2012, de 30 de janeiro de 2012, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), tem como objetivo estabelecer o Regulamento Técnico do azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva e os limites de tolerância. Assim, define o AOE como sendo o produto obtido da oliveira, livre de qualquer outra substância ou mistura, isento de qualquer processo químico para sua extração e estabelece os padrões de pureza do azeite de oliva segundo as normas do *Codex Alimentarius* (2003) e do Conselho Oleícula Internacional (COI) de acordo com a matéria prima, processo de obtenção e a tecnologia empregada. Estabelece ainda, considerando seus requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem, nos aspectos referentes à classificação do produto (Brasil, 2012).

Os AOE são classificados a partir de análises químicas e sensoriais conforme estipulado pelos Regulamentos da União Europeia 2022/2104 e 2022/2105 que definem os padrões para a classificação, a qualidade destes óleos e os métodos de análise para azeites e óleos de bagaço de azeitona com o objetivo de proteger os consumidores, garantir a autenticidade dos produtos e promover o comércio justo (União Europeia, 2022a; União Europeia, 2022b; Brasil, 2012).

- Grau de acidez: Indica a quantidade de ácidos livres em ácido oleico, sendo um indicador da qualidade do azeite.
- Índice de peróxidos: Reflete o nível de oxidação do azeite, indicando a deterioração de componentes nutricionais.
- Absorbância em ultravioleta: Realizada em espectrofotômetro de absorção atômica, essa medida é utilizada para identificar adulterações ou anomalias no azeite.
- Características sensoriais: Englobam sensações como odor, sabor e cor, determinantes para a avaliação sensorial do azeite. As características podem ser agradáveis (amargo, doce, frutado) ou desagradáveis (rancificado, avinagrado). A cor pode variar entre verde (rica em clorofilas) e amarelo (rica em carotenos).

3.2 Óleos essenciais

OEs são definidos pela Norma 9235:2021 da *International Organization for Standardization* (ISO) como:

> "... produtos obtidos de matérias-primas naturais de origem vegetal, por destilação a vapor, por processos mecânicos a partir do epicarpo de frutos cítricos, ou por destilação a seco, após a separação da fase aquosa – se houver – por processos físicos." (ISO, 2021).

Os OEs são constituídos por misturas complexas com natureza líquida, oleosa e aromática, de baixo peso molecular e com reduzida solubilidade em água. Os OEs podem ser extraídos de diversas partes das plantas, como flores, sementes, folhas, cascas, frutos e raízes, sendo produzidos em diferentes estágios dos ciclos de vida dos vegetais, tais como estágio de crescimento, divisão celular, armazenamento, respiração, reprodução, além de estarem relacionados com as funções de defesa e atração de polinizadores. Estima-se que três mil tipos de OEs são utilizados nas indústrias farmacêutica, agronômica, alimentícia, de higiene, cosmética e perfumaria (Ferreira, 2012).

De acordo dados do OEC - Observatório da Complexidade Econômica (2025), o Brasil é um dos maiores produtores mundiais em volume, associado em grande parte, à sua liderança absoluta na produção de óleo de laranja, um subproduto da indústria de suco, que representa mais de 80 % das exportações nacionais de OEs. Em outubro de 2025, o Brasil registrou um saldo comercial positivo de US$ 14,3 milhões em OEs, exportando US$ 23,6 milhões e importando US$ 9,36 milhões. Comparadas ao mês anterior, as exportações aumentaram 10,6 %, enquanto as importações caíram 19,5 %. As principais exportações brasileiras foram para a China, Estados Unidos e Holanda, enquanto as importações vieram principalmente da França.

A crescente demanda por alternativas aos produtos sintéticos tem impulsionado a substituição desses compostos por ingredientes naturais, evidenciando uma tendência favorável ao mercado de OEs (Bizzo; Rezende, 2022).

Alguns OEs apresentam atividades antibacterianas, antifúngicas, herbicidas, entre várias outras, amplamente estabelecidas por investigações científicas, justificando a sua utilização na medicina popular para diversas finalidades, além de serem empregados como conservantes na indústria alimentícia, de acordo com Ferreira (2012).

Particularmente em relação às suas ações antimicrobianas, o mecanismo de ação dos OEs está atribuído à disrupção da integridade e à degradação da parede celular bacteriana, resultando em alterações na permeabilidade da membrana, desequilíbrio do potencial eletroquímico e comprometimento das funções metabólicas e energéticas da célula, podendo interferir na formação da barreira de proteção dos esporos, provocando anormalidades no processo de germinação e morte celular subsequente (Dantigny; Nanguy, 2009; Nazzaro *et al*., 2013).

3.2.1 Principais constituintes dos OEs

De acordo com Tisserand (2013), os OEs são misturas complexas que contêm uma ampla variedade de constituintes químicos, que variam amplamente entre os diferentes óleos e conferem a cada um suas propriedades únicas, incluindo aroma, sabor e benefícios terapêuticos. Os principais constituintes químicos dos OEs são:

- Terpenos: compostos principais dos OEs incluem os monoterpenos hidrocarbonetos (constituídos por 10 átomos de carbono) como limoneno, pineno e mirceno, que são voláteis e têm aromas característicos; os sesquiterpenos (constituídos por 15 átomos de carbono) como cariofileno e farneseno, que têm estruturas mais complexas e são menos voláteis que os monoterpenos; e os diterpenos (constituídos por 20 átomos de carbono), que são menos comuns em OEs, mas encontrados em algumas espécies.
- Terpenoides: incluem os monoterpenos, como mentol, geraniol e linalol, que são terpenos oxigenados com propriedades funcionais adicionais, como álcoois, aldeídos ou cetonas; e os sesquiterpenos, como bisabolol e cariofileno óxido.
- Álcoois: contribuem para o aroma e têm propriedades antimicrobianas, como linalol, geraniol e terpineol.
- Aldeídos: atribuem aromas fortes e propriedades antimicrobianas, como citral, citronela e cinamaldeído.
- Cetonas: responsáveis por aromas característicos e têm várias aplicações terapêuticas, como mentona, carvona e jasmona. São responsáveis por aromas característicos e têm várias aplicações terapêuticas.
- Ésteres: contribuem para o aroma doce e frutado dos OEs, como acetato de linalila e acetato de geranila.
- Éteres como anetol e safrol têm aromas característicos, encontrados em óleos como o de anis.
- Lactonas: como cumarina encontradas em algumas plantas com aromas doces.
- Óxidos: como o 1,8-cineol (eucaliptol), presente em óleos como o de eucalipto, têm propriedades terapêuticas.

3.2.2 Métodos de extração de OEs

Os OEs podem ser obtidos por meio de diversos métodos de extração, cada um adaptado às características das plantas e de suas partes específicas. A escolha da melhor metodologia para a extração depende do tipo de planta, da finalidade do óleo e das condições disponíveis.

Em recente revisão, os métodos de extração de OEs foram divididos em métodos convencionais e não convencionais, sendo subdivididos em métodos modernos de extração e técnicas não convencionais. Dentro dos métodos convencionais destacam-se a hidrodestilação, destilação por arraste a vapor, extração em Soxhlet, extração com solventes, extração com líquido pressurizado e prensagem a frio. As técnicas não convencionais incluem a extração com fluido supercrítico, hidrodestilação assistida por micro-ondas, extração assistida por ultrassom, extração por micro-ondas com solvente livre, enquanto nos métodos modernos está a destilação molecular, destilação fracionada, extração assistida por enzima, extração com CO_2 supercrítico assistida por enzima, extração por ultrassom assistida por enzima e destilação com água com aquecimento ômico. Os métodos convencionais geralmente são relacionados com baixo rendimento e possibilidade de degradação térmica dos componentes do óleo comparados aos não convencionais. Os métodos mais recentes apresentam maior rendimento, seletividade e sustentabilidade (Nabi *et al*., 2025).

A prensagem à frio é um método que, embora seja convencional, possui várias vantagens tais como ocorrer em baixas temperaturas (menor que 50 $^{\circ}$C). Esse método destaca-se por preservar compostos termicamente instáveis, apresentar baixo custo operacional e caráter ambientalmente sustentável, uma vez que dispensa o uso de solventes orgânicos, além de manter a integridade dos compostos bioativos e demonstrar viabilidade comercial, refletindo positivamente em potenciais benefícios à saúde humana (Nabi *et al*., 2025).

A destilação a vapor ou arraste a vapor é um dos métodos mais utilizados para extrair OEs de plantas sensíveis ao calor porque permite a extração sem expor o material vegetal a temperaturas excessivas. Esta metodologia foi utilizada para a obtenção dos óleos de alecrim e orégano utilizados neste estudo, a partir das folhas, que em contato com o vapor de água aquecida liberam os compostos voláteis, onde o vapor carregado de óleo é condensado em um frasco (aparelho de Clevenger) e depois separado. As vantagens desse método incluem a capacidade de extrair óleos sem degradação térmica, o baixo custo, a eficiência para produção em larga escala e o fato de que temperaturas de vapor mais altas tendem a aumentar o rendimento da extração (Nabi *et al*., 2025).

3.3 OEs selecionados

3.3.1 Alecrim (Rosmarinus officinalis)

O Alecrim, popularmente conhecido como “flor-de-olimpo” ou “rosmarinho”, é uma planta de ciclo perene de origem mediterrânea atualmente cultivada em todo o mundo. O arbusto pode chegar a 1,5 m de altura dependendo de sua variedade e área de cultivo, é ramificado, com folhas aromáticas e flores azuis (Figura 2). É muito empregado para fins terapêuticos, sendo seu OE extraído um poderoso agente anti-inflamatório e cicatrizante, apresentando também atividade antisséptica, antifúngica, inseticida, antioxidante, adstringente, antimicrobiana, anti-inflamatória e antitumoral (Melo *et al*., 2021).

Figura 2 - *Rosmarinus officinalis*



Fonte: Epamig, 2023.

Os principais constituintes químicos do OEA são os monoterpenos, como α-pineno e 1,8-cineol (eucaliptol), que dão aquele aroma fresco e penetrante tão característico. Os sesquiterpenos, como o β-cariofileno também presente no óleo, não só têm propriedades anti-inflamatórias como também antioxidantes, enquanto os álcoois, como o α-terpineol e o borneol, são conhecidos por acalmar e ajudar nos processos de desinfecção. Já as cetonas são ótimas para ajudar na cicatrização da pele. Os ésteres, como o acetato de bornila, não apenas proporcionam o aroma único do alecrim, mas também oferecem uma série de benefícios terapêuticos, como ajudar na concentração mental e aliviar dores musculares (Tisserand, 2013).

Costa *et al*. (2021) conduziram uma avaliação "*in vitro*" da atividade antimicrobiana

do OEA em associação com o hidróxido de cálcio, direcionada a cepas de *E. faecalis*, como uma alternativa para a medicação intracanal no tratamento endodôntico. Utilizando metodologias de microdiluição em caldo, os resultados indicaram que o hidróxido de cálcio em meio aquoso não demonstrou eficácia contra as cepas de *E. faecalis*. No entanto, quando associado ao OEA, houve efetividade, com CIM e CBM iguais a 5,55 mg/mL, sugerindo a possibilidade de sinergismo entre o OE e o hidróxido de cálcio.

Cutrim *et al*. (2019) investigaram a atividade antimicrobiana e antioxidante dos OEs obtidos por hidrodestilação de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinali*s (Alecrim), utilizando o processo de extração pelo extrator Clevenger. O potencial antimicrobiano foi avaliado pelo método de difusão de disco, utilizando cepas de bactérias Gram-negativas, como *E. coli*, e uma Gram-positiva, *S. aureus* e a atividade antioxidante pelo método ABTS [2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonico)] Os resultados evidenciaram efeito antimicrobiano dessas plantas frente às cepas bacterianas testadas e maior eficiência do óleo de alecrim na estabilização do radical ABTS em comparação ao OE de gengibre.

Alves (2018) desenvolveu filmes de poli 3-hidroxibutirato (PHB) - polietilenoglicol (PEG), aditivados com OEA, destinados a embalagens com propriedades antimicrobianas, visando enfrentar as bactérias *E. coli*, *Enterobacter aerogenes* e *S. aureus*. O estudo evidenciou a efetiva incorporação deste OE no filme polimérico de PHB/PEG. No que se refere à atividade antimicrobiana, o OEA inibiu o crescimento microbiano da *E. coli* (com o maior halo de inibição), *S. aureus* e *E. aerogenes*, demonstrando eficácia na aplicação de embalagens com propriedades antimicrobianas.

3.3.2 Limão siciliano (Citrus limon)

O limão siciliano (Figura 3) é o fruto do limoeiro, uma árvore de pequeno porte caracterizada por seus pequenos ramos, os quais são providos de espinhos robustos (Matheyambath; Padmanabhan; Paliyath, 2016). É empregado na culinária e na medicina popular há séculos, mais recentemente na indústria de alimentos como flavorizante e atualmente tem despertado interesse da indústria farmacêutica e comunidades científicas, dado o potencial antimicrobiano e antifúngico do OE extraído da casca do fruto (Souza, 2019).

O limão siciliano é uma fonte rica de flavonoides como as flavononas eriodictiol, hesperidina, hesperetina, naringina; as flavonas - apigenina, diosmina; os flavonóis - quercetina; e seus derivados, que desempenham um papel fundamental na determinação da

atividade biológica do *C. limon* e outros flavonoides encontrados na fruta como limocitrina, espinacetina e neohesperidina. Além destes, a vitamina C (ácido ascórbico) está presente em uma proporção considerável em toda a fruta, desde a casca até o suco (Klimek-Szczykutowicz; Szopa; Ekiert, 2020).

Figura 3 - Limão siciliano (fruto)



Fonte: Natone, 2023.

A composição química dos óleos essenciais de limão tem sido amplamente investigada, especialmente nas variedades Siciliano e Eureka, nas quais foram identificados 38 compostos, com predominância de d-limoneno (64,57–70,09%), seguido por β-pineno (12,52–16,97%), γ-terpineno (3,85–6,21%) e α-pineno (2,70–4,40%), componentes diretamente associados às propriedades sensoriais e biológicas desses óleos essenciais (Teixeira *et al*, 2013).

Silva (2017) estudou a atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos totais de diferentes partes do limão siciliano (*Citrus limon*) concluindo que todas as partes do limão siciliano apresentam atividade antimicrobiana contra as cepas de *E. coli* e *S. aureus*, além de alto poder antioxidante.

A atividade antimicrobiana de condimentos portugueses e OE de plantas aromáticas frente a bactérias patogênicas e/ou deteriorantes de alimentos, dentre eles o OELS sobre bactérias Gram-positivas (*L. monocytogenes, Clostridium perfringens, B. cereus, S. aureus, Enterococcus faecium, E. faecalis,* e *Staphylococcus epidermidis*) e Gram-negativas (*Salmonella enterica, E. coli,* e *P. aeruginosa*) foi avaliada por Silva (2014). Os resultados obtidos nos testes com o OELS evidenciaram sua atividade antimicrobiana contra todas as bactérias testadas. Entre todos os OEs testados, apenas o limão siciliano conseguiu inibir *E.*

coli, *P. aeruginosa* e *Salmonella* spp. Além disso, o suco do fruto também foi eficaz, contra todas as cepas testadas.

3.3.3 Orégano (Origanum vulgare)

O orégano, também denominado manjeronha-silvestre, mejorana (na Espanha), *marjolaine sauvage* (na França) *e origano* (na Itália), pertence à família *Lamiaceae* e tem sua origem na região do Mediterrâneo.

Esta planta (Figura 4) é uma herbácea perene, aromática, com aproximadamente 30 a 50 cm de altura, apresentando folhas simples e flores róseas dispostas em glomérulos. Na medicina popular, é amplamente utilizada para tratar problemas gástricos e como expectorante, devido aos seus efeitos antiespasmódicos, antissépticos, anti-inflamatórios, sedativos, antiflatulentos e na promoção da atividade respiratória, especialmente em casos de bronquites e laringite. O OE extraído de suas folhas é composto por dezenas de compostos ativos, destacando-se fenóis como o timol e o carvacrol, reconhecidos por suas propriedades antimicrobianas. Estes compostos atuam nas camadas lipídicas, comprometendo a homeostase do pH e o equilíbrio de íons, resultando na inibição da divisão celular e na desidratação das células bacterianas (Araújo; Longo, 2016).

Figura 4 - Orégano fresco.



Fonte: Saint, 2025.

O OEO é valorizado por suas propriedades aromáticas, sendo amplamente utilizado na medicina tradicional e na culinária. Constituído principalmente por carvacrol (60 % - 80 %), conhecido por como um potente antimicrobiano, antifúngico e antioxidante; timol (5 % - 10 %), com propriedades antimicrobianas, antifúngicas e antissépticas; *p*-cimeno (5 %-10 %), que possui propriedades anti-inflamatórias; *γ*-terpineno (3 % - 7 %), que é antioxidante; borneol (1 % - 4 %), com propriedades antissépticas e anti-inflamatórias; e linalol (0,1 % - 0,5 %), que tem um aroma floral e propriedades calmantes (Zinno *et al*., 2023).

Helal *et al*. (2019) investigaram os efeitos do OEO em cepas bacterianas resistentes a drogas utilizadas comumente, incluindo *S. aureus, Streptococcus pyogenes, E. coli e Salmonella typhimurium*. Os resultados revelaram uma notável atividade antibacteriana do OE, evidenciada pelos baixos valores de concentração inibitória mínima (CIM). A análise desses estudos sugere que o OE exibe tipicamente uma atividade antibacteriana mais pronunciada contra bactérias Gram-positivas do que Gram-negativas.

Estudo conduzido por Altun e Yapici (2022) investigou a atividade antibacteriana de nove OEs de orégano frente a *S. pyogenes, S. aureus* e *Streptococcus agalactiae*, revelando que o composto carvacrol juntamente com *γ*-terpineno e *p*-cimeno são importantes componentes na atividade antibacteriana observada.

Em uma pesquisa conduzida por Vasconcelos e Moura (2019), o OEO demonstrou significativos efeitos inibitórios contra *Klebsiella pneumoniae, Serratia marcescens e Acinetobacter baumannii* resistentes ao carbapenem, uma classe de antibióticos *β*-lactâmicos de amplo espectro, usados principalmente para tratar infecções graves ou resistentes a outros antibióticos. No caso de *A. baumannii*, o OE demonstrou ação inibitória mais rápida que a polimixina, além de apresentar melhor desempenho que a gentamicina contra *K. pneumoniae* e *S. marcescens*.

Kozics *et al*. (2019) o OE demonstrou propriedades antimicrobianas contra bactérias multirresistentes, com CIM de 0,125 % para *P. aeruginosa* e 0,05 % para *Proteus vulgaris e K. pneumoniae*, superando a eficácia de cefuroxima e fluconazol. Esses resultados destacam a notável eficácia do OEO contra cepas bacterianas resistentes.

Asensio, Nepote e Grosso (2013) avaliaram a aceitação pelos consumidores e a estabilidade de qualidade de azeites aromatizados com OEs de diferentes espécies de orégano, em variadas concentrações, expostos ou não à luz. O estudo atribuiu à atividade antioxidante do OE, que retarda a oxidação lipídica do azeite, além de ressaltar a importância dessa descoberta, indicando que a utilização de substâncias naturais na conservação de alimentos

com alto teor lipídico pode revitalizar o interesse na utilização de produtos naturais na indústria alimentícia.

3.4 Aplicações dos OEs na alimentação

Impulsionadas pela crescente demanda dos consumidores por produtos com menos aditivos químicos, as indústrias de alimentos têm buscado alternativas naturais que ofereçam propriedades capazes de garantir a estabilidade microbiana. Esses compostos podem minimizar os efeitos indesejáveis causados por microrganismos durante a produção, além de contribuir para a extensão da vida útil dos alimentos e para a inibição de patógeno (Ramme *et al*., 2020).

Cruz *et al*. (2022) avaliaram a adição de OEs de alecrim, limão, louro e orégano ao AOE, visando aprimorar suas características sensoriais e estabilidade oxidativa. Os azeites aromatizados apresentaram melhor desempenho sensorial em relação ao azeite padrão, tanto para provadores treinados quanto não treinados. Do ponto de vista físico-químico, não foram observadas alterações prejudiciais nos índices de acidez e peróxidos**,** os quais permaneceram dentro dos limites legais. Além disso, evidenciaram que a incorporação dos OEs aumentou a estabilidade oxidativa do produto, evidenciando seu potencial como conservantes naturais **e** destacando a viabilidade tecnológica e comercial dos azeites aromatizados para diferentes perfis de consumidores.

Palazzolo, Laudicina e Germanà (2013) destacaram a ampla relevância dos OEs cítricos, obtidos principalmente da casca, folhas e flores de espécies do gênero *Citrus*, como *Citrus sinensis* (laranja doce), *Citrus limon* (limão), *Citrus reticulata* (tangerina), *Citrus paradisi* (grapefruit), *Citrus bergamia* (bergamota) e *Citrus aurantium* (laranja amarga). Esses óleos apresentam elevada disponibilidade e possuem propriedades bactericidas**,** fungicidas**,** virucidas e antioxidantes, associadas a compostos voláteis como terpenos e terpenoides, conferindo aos OEs cítricos, alternativas naturais aos conservantes sintéticos.

Leão *et al*. (2017) descreveram o resultado positivo da aplicação de OEs de sálvia em carne de frango e carne bovina, OE de manjericão em salame tipo italiano e OE de louro em embutidos frescos, nas concentrações de 0,05 % e 0,1 % com o objetivo de inibir atividade microbiana e impedir a ação oxidativa.

Kempinski *et al*. (2023) avaliaram a aceitação de alimentos infantis enriquecidos com OEO entre crianças com paralisia cerebral. A aceitação foi medida com base em critérios como sabor, textura e preferência geral, e o *feedback* foi coletado com os responsáveis pelas

crianças. Os resultados apontam que a maioria das crianças e seus responsáveis mostraram uma aceitação positiva dos alimentos contendo OEO. Além disso, o estudo observou que o sabor e a textura dos alimentos não foram significativamente alterados de forma negativa pela adição do OE, sugerindo que a incorporação de OEO em alimentos infantis pode ser bem aceita por crianças com paralisia cerebral, oferecendo uma alternativa benéfica, devido às suas propriedades antimicrobianas e ao potencial para melhorar a saúde digestiva. Este estudo foi considerado relevante para o desenvolvimento de dietas funcionais que atendam às necessidades nutricionais específicas dessas crianças, além de explorar os possíveis benefícios do OEO na dieta infantil.

O estudo realizado por Diniz *et al*. (2023) verificou a atividade antibacteriana do OE de tomilho (*Thymus vulgaris*) contra cepas de *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* e *S. saprophyticus* isoladas de produtos cárneos. Os resultados mostraram que o OE de tomilho possui uma forte atividade inibitória contra as bactérias estudadas, com valores de CIM variando entre 64 e 512 μg/mL e efeito bactericida para a maioria das cepas, com valores de CBM entre 256 e 1024 μg/mL. O óleo exibiu interações variadas quando associado a antimicrobianos, apresentando efeitos sinérgicos (41,67 %), indiferentes (50 %) e antagonistas (8,33 %). O OE de tomilho se apresentou como um agente antibacteriano e antiaderente eficaz, representando uma alternativa promissora nos esforços para combater DTHA.

Estudo conduzido por Santos *et al*. (2021) teve como objetivo avaliar a influência do OE de marmeleiro-branco nos parâmetros sensoriais de bebidas lácteas fermentadas com polpa de cajá amarela. As bebidas lácteas analisadas continham leite e soro de origem caprina, extrato hidrossolúvel de soja, polpa de cajá amarela e OE de marmeleiro-branco nas seguintes proporções: 0,0, 0,0035, 0,0070 e 0,0105 g/L. O perfil sensorial das bebidas lácteas fermentadas foi obtido por meio da análise descritiva quantitativa. Os resultados indicaram que o OE de marmeleiro-branco influenciou a cor amarela do cajá, brilho, viscosidade e atributos amadeirados de sabor, aparência e paladar. As amostras foram aprovadas no teste de aceitação, sem diferença estatística significativa entre os tratamentos. Portanto, concluiu-se que a adição do referido OE promoveu alterações nas características sensoriais das bebidas lácteas fermentadas com polpa de cajá amarela, especialmente nos atributos de aparência e sabor. Contudo, essas alterações influenciaram negativamente a aceitação do produto analisado.

Almeida *et al*. (2020) determinaram a composição química, a atividade antioxidante e as propriedades antifúngicas dos OEs de orégano (*Origanum vulgare*) e hortelã (Mentha

arvensis) contra os fungos *Aspergillus flavus* e *Penicillium commune* como possíveis alternativas para a conservação de alimentos. A atividade antimicrobiana de ambos os óleos foi demonstrada pela concentração inibitória mínima (CIM) de 4 mg/mL para o óleo de orégano e 8 mg/mL para o óleo de hortelã e pela dose inibitória mínima (< 110 μL/L para o óleo de orégano e < 1500 μL/L para o óleo de hortelã). Ambos os óleos apresentaram atividade antioxidante superior a 70 % nas concentrações de 0,5 mg/mL para o óleo de orégano e 30 mg/mL para o óleo de hortelã após 360 minutos de reação. Os resultados expressaram alta atividade antifúngica contra *Aspergillus flavus* e *Penicillium commune.*

Yasir *et al*. (2024) investigaram a eficácia de cinco OEs (tomilho, orégano, capim-limão, hortelã e alecrim) contra patógenos de origem alimentar multirresistentes (*Escherichia, Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp. *e Staphylococcus*) que foram isolados do leite cru e caracterizados bioquimicamente. A atividade antibacteriana foi avaliada utilizando o método padrão de difusão em disco, demonstrando atividade antimicrobiana contra todas as bactérias testadas, exceto *P. aeruginosa.* O OE de tomilho foi o mais eficaz contra a maioria das cepas bacterianas multirresistentes, formando a maior zona de inibição (26 mm) contra *E. coli*, seguido pelo óleo de orégano (18 mm) contra *S. aureus* ($p < 0,05$). *Klebsiella* spp. e *Citrobacter* spp. mostraram resistência ao óleo de menta e ao óleo de capim-limão, respectivamente. Os óleos de capim-limão, hortelã e alecrim foram menos ativos contra todas as bactérias testadas. Este estudo sugere que os OEs possuem potencial como agentes antibacterianos naturais para a conservação de alimentos.

3.5 Microrganismos causadores de doenças de transmissão hídrica e alimentar

As DTHA são problemas de saúde que acometem a pessoa ao consumir água ou alimentos contaminados por microrganismos, como bactérias, vírus ou parasitas. Os sinais clínicos são diversos, entretanto os mais comuns são febre, náuseas, diarreia e quadros de gastroenterite, podendo, em situações mais severas, comprometer órgãos vitais, incluindo rins, fígado e sistema nervoso (Brasil, 2024).

De acordo com dados divulgados pelo Brasil (2025) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que uma em cada dez pessoas adoecem em decorrência dessas doenças e que cerca de 420.000 óbitos ocorrem anualmente pelo mesmo motivo. Além disso, observou-se um aumento expressivo no número de surtos registrados: em 2023, houve 276 ocorrências a mais em relação ao ano de 2014, indicando uma tendência de crescimento do número de casos. Os agentes etiológicos mais associados aos surtos de DTHA no Brasil,

registrados entre os anos de 2014 e 2023, foram: *E. coli* (34,8 %), *Staphylococcus* spp. (9,7 %), *Salmonella* spp. (9,6 %), *Norovírus* (6,9 %) e *B. cereus* (5,8 %). Os surtos de DTHA notificados no Brasil ocorreram com maior frequência na Região Sudeste, seguida pela Região Nordeste, sendo o Centro-Oeste menos acometido. A maior parte dos surtos foi registrada em residências, seguida por restaurantes e ambientes escolares e os principais alimentos envolvidos foram água, alimentos mistos e múltiplos alimentos (Brasil, 2024).

Esses dados apontam que entre os agentes etiológicos apontam as bactérias *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella* spp. como as mais associadas aos surtos de DTHA no Brasil, devido à sua presença em diversas fontes alimentares e facilidade de replicação e produção de toxinas quando em condições favoráveis (Brasil, 2022). Na Tabela 2 são fornecidos os dados do último boletim epidemiológico divulgado sobre os surtos de DTHA ocorridos no Brasil entre os anos de 2013 e 2023.

Tabela 2 - Surtos de DTHA no Brasil entre os anos de 2014 a 2023

Ano	Nº de surtos	Nº de expostos	Nº de doentes	Nº de hospitalizados	Nº de óbitos	Letalidade
2014	886	124.359	15.700	2.524	9	0,06
2015	673	37.165	10.676	1.453	17	0,16
2016	538	200.896	9.935	1.406	7	0,07
2017	598	47.409	9.426	1.439	12	0,13
2018	597	57.297	8.406	916	9	0,11
2019	771	17.388	9.586	1.301	10	0,10
2020	292	10.548	4.600	595	6	0,13
2021	546	17.076	8.278	639	10	0,12
2022	811	33.977	14.336	630	10	0,07
2023	1.162	27.854	19.671	1.443	31	0,16
Total	**6.874**	**573.969**	**110.614**	**12.346**	**121**	**0,11**

Fonte: SINAN/SVSA/MS, 2025.

Observam-se variações significativas no número de surtos ao longo dos anos. O período com o menor número de surtos foi em 2020, com apenas 292 ocorrências, possivelmente devido à pandemia de COVID-19 e às medidas de restrição social que reduziram a exposição a eventos de contaminação em massa. No entanto, 2023, com dados preliminares, registrou o maior número de surtos, totalizando 1.162 eventos, o que representa um aumento expressivo em relação aos anos anteriores. Esse aumento pode ser associado a diversos fatores, como mudanças nos padrões de consumo, relaxamento nas medidas sanitárias e variações climáticas que afetam a qualidade da água e dos alimentos.

Outro aspecto importante diz respeito ao número de pessoas expostas, que alcançou seu pico em 2016, com 200.896 indivíduos potencialmente em risco. Este dado, no entanto, não se traduziu em um aumento proporcional de doentes, sugerindo uma possível melhora nas condições de saneamento ou na conscientização sobre a prevenção dessas doenças. O número de doentes foi mais elevado em 2023, com 19.671 casos confirmados, representando uma alta preocupação para as políticas públicas de saúde.

Em 2014 foi o ano com o maior número de casos hospitalizados (2.524), enquanto 2020 registrou o menor número (595), o que pode indicar que os surtos recentes tendem a ser menos graves ou que houve avanços na abordagem clínica dos casos. No entanto, 2023, com 1.443 hospitalizações, evidencia um aumento em relação aos anos imediatamente anteriores, o que deve ser monitorado de perto pelas autoridades sanitárias.

A letalidade média dos surtos ao longo do período foi de 0,11 %, com variações; a letalidade relativa de 2023 também foi alta, com 0,16 %, o que pode indicar uma gravidade maior nos casos mais recentes ou dificuldades no atendimento hospitalar. Esses dados podem ser preocupantes, uma vez que a letalidade reflete diretamente a capacidade do sistema de saúde de manejar os casos mais graves.

Esses números reforçam a necessidade de contínuos esforços no monitoramento e na prevenção das DTHA no Brasil, incluindo políticas públicas focadas em educação sanitária, inspeção de alimentos e água, além de uma resposta rápida e eficiente às crises sanitárias.

Dados da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (Brasil, 2020) fornecem um panorama sobre surtos de DTHA no Brasil, no período de 2016 a 2019, os quais resultaram em 38 óbitos. Dentre estes, 23 % tiveram seus agentes etiológicos identificados, sendo os mais prevalentes a *E. coli* (35,7 %), *Salmonella* (14,9 %), *Staphylococcus* (11,5 %), *Norovírus* (8,3 %), *B. cereus* (7,4 %) e rotavírus (6,95 %), entre outros (Brasil, 2024).

3.5.1 Escherichia coli

A *E. coli* está frequentemente associada a diversos tipos de infecções, apontada no Brasil como a bactéria mais notificada nos casos de DTHA (Brasil, 2024). Este bacilo Gram-negativo, pertencente à família *Enterobacteriaceae*, assume um papel de indicador de contaminação fecal se encontrado em alimentos. Sua presença em alimentos e água, em quantidades superiores aos limites estabelecidos pelas normativas vigentes, indica práticas inadequadas de higiene por parte dos manipuladores de alimentos (Melo, 2018).

3.5.2 Staphylococcus aureus

Responsável por aproximadamente 12 % dos surtos de DTHA ocorridos no Brasil, o *S. aureus* é a segunda bactéria mais associada a essas doenças (Brasil, 2024). Presentes na pele, nariz e mucosas de humanos e animais (suínos, vacas, cabras, galinhas e patos) são patógenos de fácil contato com alimentos durante a manipulação. Assumem morfologia de cocos Gram-positivos, com grande capacidade de desenvolver resistência antimicrobiana. Dissemina-se tanto pelo ar quanto pela água e induz a intoxicação alimentar por meio da produção de enterotoxinas estafilocócicas, as quais são liberadas pela bactéria em condições propícias (Dehkordi; Shamsabadi; Banimehdi, 2019). Além disso, *S. aureus* é responsável pela deterioração dos alimentos, levando à redução do tempo de vida de prateleira de produtos industrializados (Abebe; Gugsa; Ahmed, 2020).

As formas mais comuns da transmissão e contaminação pelo *S. aureus* são por meio da ingestão de produtos de origem animal mal cozidos, refrigerados inadequadamente e pelas superfícies ou equipamentos contaminados pelo contato dos manipuladores de alimentos (Wang *et al*., 2017).

3.5.3 Salmonella spp.

Salmonella spp. é o terceiro grupo de bactérias mais atribuídas a surtos de DTHA no Brasil, sendo relacionada à ingestão de alimentos como carnes bovinas, suínas, de aves, ovos e leite, preparados e armazenados de maneira inadequada.

Pertencente à família *Enterobacteriaceae*, essa bactéria Gram-negativa também transmite a febre tifoide pela variante *S. typhi* apresentando sintomas graves e até letais (Santos *et al*., 2020).

Causadoras da Salmonelose (termo utilizado para representar um grupo de doenças causadas por qualquer gênero *Salmonella)*, estas bactérias são capazes de infectar humanos e animais, sendo a *S. typhimurium* e a *Salmonella paratyphi* as mais relatadas acometendo seres humanos. Estão associadas a quadros de internações e óbitos decorrentes das complicações causadas pelos sintomas como diarreia, náuseas, vômitos, desidratação, dor abdominal, dor de cabeça, febre, calafrios, mialgia, fraqueza muscular e mal-estar geral, que podem durar por 3 a 4 dias em indivíduos saudáveis (Fernandes *et al*., 2022).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostras

4.1.1 Azeite de oliva extravirgem

Os azeites de oliva extravirgem, da marca Gallo®, pertencentes ao mesmo lote (3334H9212), foram adquiridos no comércio local da cidade de Uberaba (MG, Brasil). O produto apresenta características de qualidade em conformidade com as normas vigentes, sendo obtido exclusivamente a partir de olivas. De acordo com a descrição sensorial fornecida pelo fabricante, o azeite apresenta perfil equilibrado, com frutado perceptível, amargor e picância moderados, além de notas suaves e levemente adocicadas (Gallo, 2024).

4.1.2 Amostras dos OEs

Os OEs de alecrim - *Rosmarinus officinalis* (lote 187), limão siciliano - *Citrus limon* (lote 192) e orégano - *Origanum vulgare* (lote 250) foram adquiridos da empresa Ferquima Indústria e Comércio LTDA em Vargem Grande Paulista (SP, Brasil) com registro na ANVISA nº 4.02734-2 autorizado em 18/12/2020.

Na tabela 3 estão apresentados os OEs utilizados, bem como sua forma de extração e principal constituinte químico.

Tabela 3 - Características dos OEs utilizados

Nome	Nome científico	Extração	Principal componente
Óleo essencial de alecrim	*Rosmarinus officinalis*	Destilação a vapor das folhas	Cineol
Óleo essencial de orégano	*Origanum vulgare*	Destilação a vapor das folhas	Carvacrol
Óleo essencial de limão siciliano	*Citrus limon*	Prensagem a frio da casca dos frutos	Limoneno

Fonte: Ferquima, 2024.

Os produtos possuem 100 % de pureza, isentos de material solvente e/ou diluente atendendo as especificações da RDC 481 de 23 de setembro de 1999 que estabelece parâmetros para controle microbiológico de produtos cosméticos (Brasil, 1999). Esses produtos tiveram seus parâmetros de qualidade (lote, coloração, pureza, odor, densidade a 20 °C e índice de refração a 20 °C) descritos em relatório técnico (anexos A, B, C), disponibilizado pela empresa Ferquima LTDA.

As espécies vegetais utilizadas neste estudo, alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), limão-siciliano (*Citrus limon*) e orégano (*Origanum vulgare*), apresentam origem predominantemente exótica no território brasileiro. O alecrim é nativo da região do Mediterrâneo (sul da Europa) e no Brasil, é cultivado de forma ampla, porém não é considerada espécie nativa nem naturalizada. De modo semelhante, o limão-siciliano é originário da Ásia, especialmente da Índia e do Sudeste Asiático, sendo amplamente cultivado e difundido na fruticultura brasileira, sem caracterização como espécie nativa ou naturalizada. O orégano, por sua vez, tem origem na região do Mediterrâneo, abrangendo áreas da Europa e da Ásia Ocidental, e é cultivado no Brasil como espécie exótica.

Dessa forma, a utilização dos OEs dessas espécies não configura acesso ao patrimônio genético brasileiro, conforme estabelecido pela Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015, e pelo Decreto nº 8.772, de 11 de maio de 2016, que regulamentam o SISGEN - Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (Pant, 2025; EMBRAPA, 2017).

4.2 Caracterização dos OEs por CG-EM

Os constituintes presentes nas amostras de OEs foram realizadas em um cromatógrafo *Agilent* 7890B acoplado a um detector de massas *Agilent* MSD5977B e coluna capilar DB-5MS UI Agilent (30 m x 0,25 mm, espessura de filme de 0,25 m) (Figura 5).

Foi injetado 1 µL das amostras dos OEs em modo split 1:20. A programação de temperatura iniciou-se a 60 ºC, sendo aumentada a uma taxa de 3 ºC/min até 240 ºC, mantendo-se constante por 5 min. Utilizou-se hélio como gás de arraste, com fluxo de 1 mL/min, e as temperaturas do injetor e do detector foram 220 ºC e 240 ºC, respectivamente. O detector de massas operou com energia de ionização de elétrons de 70 eV, captando fragmentos com *m/z* de 40 a 650 u. A temperatura da interface foi de 240 °C, temperatura do quádruplo de 150 °C e a temperatura da fonte de íons de 210 °C.

A identificação dos constituintes químicos foi realizada por meio da comparação dos espectros de massa obtidos com as bibliotecas de referência NIST e Adams (Nist, 2017; Adams, 2007), bem como pela análise dos índices aritméticos (IAs), determinados a partir de dados disponíveis na literatura e no compêndio de Adams. O cálculo dos índices aritméticos (Equação 1) foi efetuado com base nos tempos de retenção de uma série homóloga de alcanos lineares (C8–C40, *Sigma-Aldrich*), seguindo a metodologia proposta por Van Den Dool e Kratz (1963).

$$IA\ (x) = 100 + 100\ Pz\ [(t\ (x) - t\ (Pz)) / (t\ (Pz + 1) - t\ (Pz))] \qquad \text{(Equação 1)}$$

Onde: IA = índice aritmético, x = composto no tempo t, t = tempo de retenção, Pz = alcano anterior ao x e Pz + 1 = alcano posterior ao x.

A quantificação dos constituintes presentes nos OEs foi realizada em um equipamento CG-FID (Shimadzu GC2014) equipado com detector de ionização de chamas sob as mesmas condições empregadas no CG–EM, utilizando nitrogênio como gás de arraste. A porcentagem relativa de cada componente correspondeu à área relativa de seu pico no cromatograma.

Figura 5 - Cromatógrafo gasoso acoplado a um detector de massas Agilent®



Fonte: Laboratório Nanos-UFU (2025).

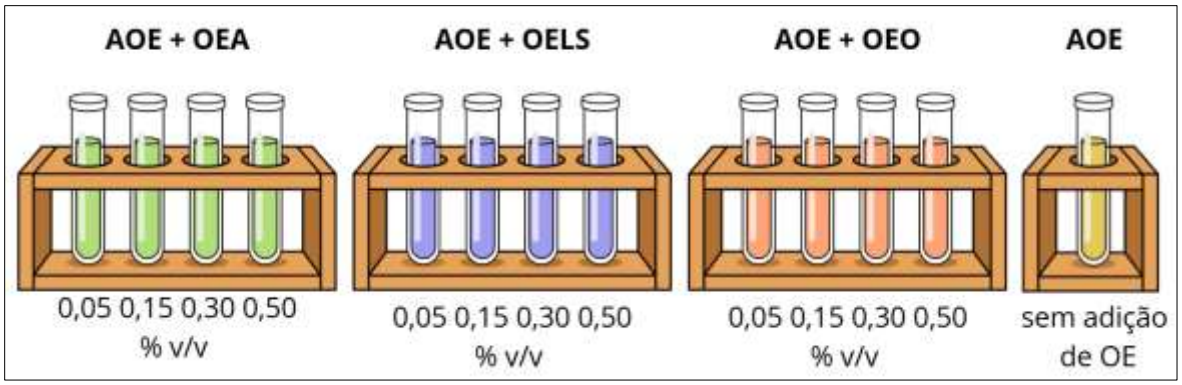
4.3 Preparo dos tratamentos

As amostras de azeites incorporadas com os OEs foram preparadas com diferentes concentrações dos óleos (0,05 %, 0,15 %, 0,30 % e 0,50 % v/v), com base em referências

prévias e visando avaliar a influência da concentração sobre a atividade antimicrobiana e parâmetros físico-químicos (Figura 6).

Uma amostra controle de AOE, sem a adição de OE, foi mantida como referência padrão. As amostras foram obtidas por homogeneização manual, identificadas e armazenadas em temperatura ambiente ao abrigo da luz.

Figura 6 - Representação esquemática do preparo dos tratamentos



Fonte: autora, 2025.

4.4 Avaliação da atividade antimicrobiana

4.4.1 Cepas microbiológicas

As cepas de *E. coli* (ATCC 35218), *S. aureus (ATCC* 6538) e *S. typhimurium* (ATCC 14028) foram provenientes do Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal do Triângulo Mineiro - *Campus* Uberlândia.

4.4.2 Discos de papel

Os discos brancos de papel filtro estéreis, com gramatura entre 320 e 350 g/m^2, Lote F080/26, validade (jun/2028), foram adquiridos da empresa Kaj Lab Produtos Científicos Ltda (CNPJ 27.955.386/0001-41), Diadema (SP, Brasil).

4.4.3 Técnica de difusão de disco

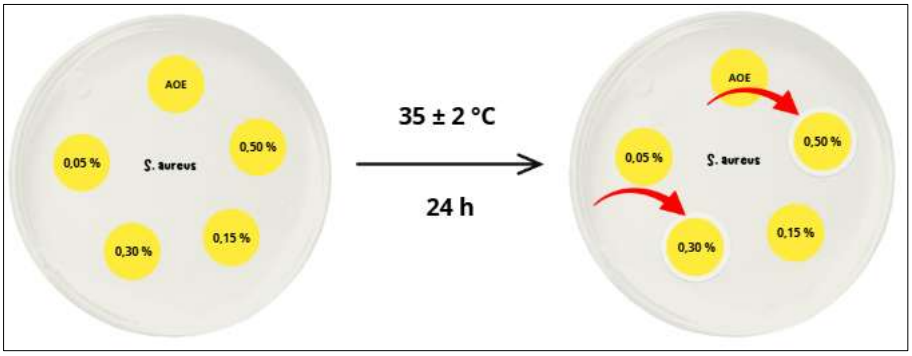
A técnica de difusão em disco tem como finalidade verificar a suscetibilidade dos microrganismos às substâncias avaliadas, permitindo uma triagem inicial da atividade

antimicrobiana por meio da formação de halos de inibição do crescimento microbiano. É caracterizada como uma análise qualitativa, sendo empregada como teste piloto para definir as concentrações utilizadas neste estudo.

A atividade antimicrobiana das amostras foi avaliada conforme metodologia clássica descrita por Bauer *et al*. (1966). As cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *S. typhimurium* previamente armazenadas sob congelamento em solução de glicerol foram reativadas por meio de uma etapa de enriquecimento em *Brain Heart Infusion* (BHI). As cepas foram suspensas em solução salina e ajustadas até atingir uma turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland (600 nm), correspondente a 1,5 x 10^8 UFC/mL.

Em seguida, discos de papel-filtro estéreis foram impregnados com volumes definidos das amostras e dispostos sobre o meio inoculado. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 horas como ilustrado na Figura 7.

Figura 7 - Representação esquemática da difusão de disco



Fonte: autora, 2025.

.

A formação de um halo de inibição ao redor do disco indica capacidade da amostra testada de inibir o crescimento bacteriano, enquanto a ausência desse halo indicou a falta de atividade antimicrobiana.

4.4.4 Determinação da CIM e CBM

O método de microdiluição em caldo utilizando microplacas de 96 poços foi utilizado para avaliar a atividade antibacteriana das amostras de azeite incorporadas com OEs (CLSI, 2007; CLSI, 2012).

As cepas provenientes da *American Type Culture Collection* (ATCC) utilizadas nos

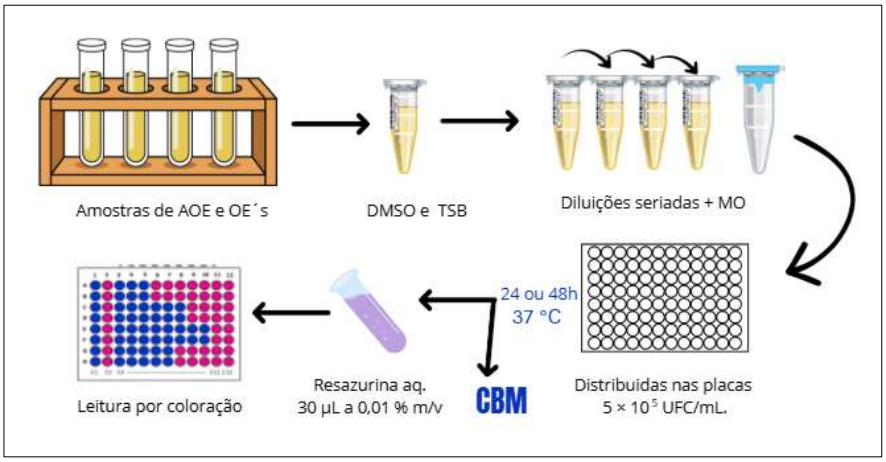
ensaios deste trabalho foram *S. aureus* (ATCC 6538), *E. coli* (ATCC 35218) e *S. typhimurium* (ATCC 14028).

O AOE e os azeites incorporados com OEs foram inicialmente dissolvidos em dimetilsulfóxido - DMSO (*Synth*), seguidos de diluição em caldo tríptico de soja (*Difco*) para os aeróbios e caldo Schaedler (*Difco*) suplementado com hemina (5 μg/mL) e vitamina K1 (10,0 μg/mL) para anaeróbios a 12000 μg/mL. As concentrações testadas estiveram entre 1,46 e 3000 μg/mL. A concentração final de DMSO em cada poço não foi maior que 4% (v/v) e esta solução foi utilizada como controle do solvente (Figura 8).

O inóculo foi ajustado para cada organismo para produzir uma concentração de 5×10^5 UFC/mL. As microplacas com os microrganismos aeróbicos foram incubadas a 37 °C por 24 h, enquanto que o microrganismo anaeróbio foi incubado por 48 a 72 horas em uma câmara de anaerobiose (*Don Whitley Scientific Bradford*, *Reino Unido*), com 5 a 10 % de H_2, 10 % de CO_2 e 80 a 85 % de N_2 a 37 °C.

Após incubação, foi adicionada aos poços das microplacas solução aquosa de resazurina (30 μL a 0,01 % m/v; *Acros Organics*) como indicador de viabilidade celular. A gentamicina foi utilizada como controle positivo para *S. aureus* e *E. coli* com concentrações testadas entre 0,12 e 1,0 μg/mL para validação do método, conforme os parâmetros recomendados pelo CLS. Os valores de CIM e CBM obtidos para gentamicina foram de 0,3688/0,3688 μg/mL frente a *S. aureus* e 0,7375/0,7375 μg/mL frente a *E. coli*.

Figura 8 - Representação esquemática de microdiluição em caldo



Fonte: autora, 2025.

Foram ainda realizados testes de esterilidade para os caldos TSB e caldo *Schedler*, controle do inóculo, controle positivo (gentamicina), amostras e controle do solvente.

A concentração bactericida mínima (CBM) foi determinada com uma alíquota retirada de cada poço sem crescimento visível de microrganismos, antes da adição da resazurina. Em seguida, essa alíquota foi introduzida em ágar BHI (*Brain Heart Infusion*) suplementado com 5 % de sangue de carneiro ou em caldo Schaedler, conforme os micro-organismos sejam aeróbios ou anaeróbios, respectivamente. As placas foram incubadas de acordo com os procedimentos previamente descritos (Sousa *et al*., 2016).

4.5 Análises físico-químicas

4.5.1 Índice de acidez

O índice de acidez foi determinado conforme a metodologia 325/IV descrita por Adolfo Lutz (1985), que utiliza hidróxido de sódio (NaOH) como agente titulante para calcular o índice de acidez das gorduras, em mg*KOH/g, de acordo com a equação 2. Este teste permite determinar o teor de ácidos graxos livres expressos por meio da porcentagem de ácido oleico presente no azeite extravirgem (até 0,8 mg KOH/g). Assim, quanto maior for o índice de acidez do azeite, maior é o seu nível de deterioração.

$$v * f * 5{,}61 / p = \text{índice de acidez} \qquad \text{(Equação 2)}$$

Onde: v = mL da solução de NaOH gasto na titulação; f = fator da solução de NaOH; 5,61 = fator de conversão; p = g de amostra.

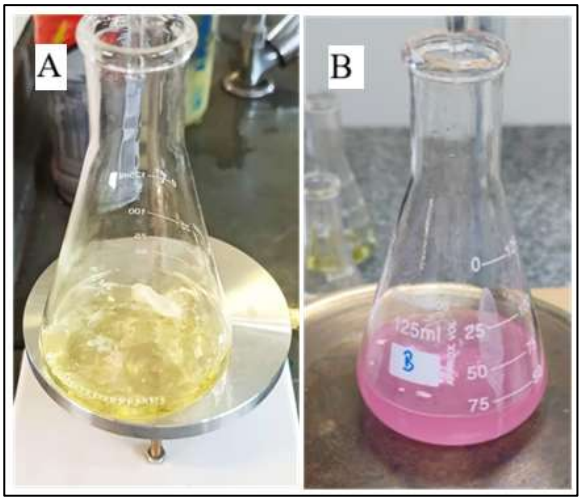
O ensaio foi determinado pela concentração de ácidos graxos livres, medida por titulação volumétrica segundo a norma do Instituto Adolfo Lutz (1985). O processo baseou-se na neutralização da amostra com uma solução alcalina de hidróxido de potássio, utilizando fenolftaleína como indicador, e os resultados foram expressos em porcentagem (%) de ácido oleico por 100 g de óleo.

Para esta determinação foram utilizados frascos *Erlenmeyer* com capacidade de 125 mL, proveta de 50 mL, bureta de 10 mL e agitador magnético. Preparou-se uma solução de éter-álcool na proporção 2:1, obtida mediante 400 mL de éter misturado a 200 mL de álcool etílico. Para a identificação do ponto final da titulação, foi utilizada uma solução de fenolftaleína a 1 %, preparada a partir da pesagem de 1 g de fenolftaleína p.a., dissolvida em 100 mL de álcool etílico a 95 % (v/v). Por fim, a solução titulante utilizada foi o hidróxido de

sódio (NaOH) 0,01 M.

As amostras de AOE + OE foram homogeneizadas e pesadas (2 ± 0,05 g) em balança analítica, em um frasco Erlenmeyer. Em seguida, 25 mL de solução éter-álcool (2:1) foram adicionados ao frasco e agitados levemente. Depois, adicionaram-se 2 gotas do indicador fenolftaleína, e a mistura foi titulada com solução de NaOH (0,1 M) sob agitação contínua, até o aparecimento e a permanência da cor rósea (Figura 9).

Figura 9 - (A) Mudança na coloração, (B) na titulação volumétrica



Fonte: autora, 2025.

4.5.2 Índice de peróxido

O índice de peróxido determina as substâncias oxidativas capazes de interferir nos compostos naturais do AOE trazendo deterioração e rancidez ao produto. A análise foi realizada conforme a metodologia 326/IV descrita por Adolfo Lutz (1985), utilizando o tiossulfato de sódio ($Na_2S_2O_3$) como agente titulante para determinar o índice de peróxido. Os resultados foram expressos em (mEq/kg) a partir da equação 3. Segundo o Codex Alimentarius (2003) e RDC 270 da ANVISA (2005), o índice de peróxidos deve ser no máximo 20 meq/kg para o AOE.

$$(A\text{-}B) * N * f * 1000 / p = \text{índice de peróxido} \qquad \text{(Equação 3)}$$

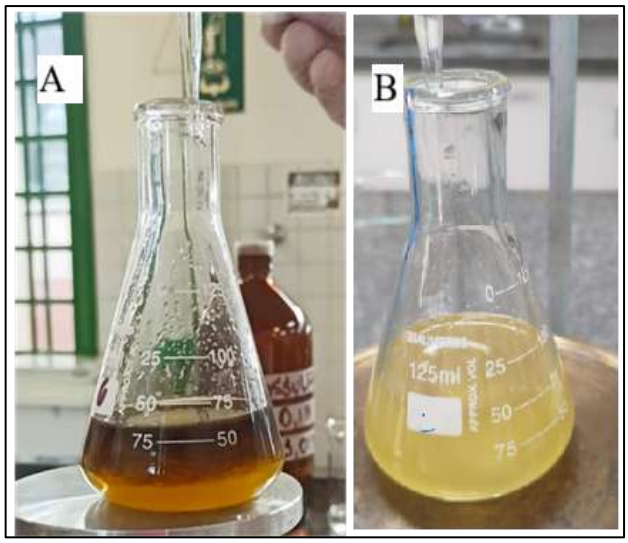
Onde: A = mL da solução de tiossulfato de sódio gasto na titulação da amostra; B = mL da solução de tiossulfato de sódio gasto na titulação do branco; N = normalidade da solução de tiossulfato de sódio; f = fator da solução de tiossulfato de sódio; P = g de amostra.

Para a realização deste ensaio foram utilizados frascos Erlenmeyer com capacidade de 125 mL, proveta de 50 mL, pipeta graduada de 1 mL, bureta de 10 mL com subdivisões de 0,05 mL e agitador magnético.

Os reagentes empregados foram: solução de tiossulfato de sódio 0,01 N, clorofórmio e ácido acético; Solução aquosa de amido solúvel a 1 % (m/v); Solução saturada de iodeto de potássio, preparada mediante a pesagem de 30 g do sal, seguido da adição de 21 mL de água destilada e solução mista de ácido acético e clorofórmio na proporção de 3:2 (v/v).

As amostras de AOE+OE foram homogeneizadas e pesadas (5 ± 0,05 g) em balança analítica. Em seguida, foram adicionados 30 mL da solução de ácido acético-clorofórmio (3:2) e a mistura foi agitada até a completa dissolução da amostra. Depois, 0,5 mL de solução saturada de iodeto de potássio (KI), deixando a solução em repouso ao abrigo da luz por exatamente um minuto. Posteriormente, foram adicionados 30 mL de água e, sob agitação constante, a solução de amido a 1 %. A titulação foi realizada com solução de tiossulfato de sódio (0,1 N) até o desaparecimento da coloração azulada (Figura 10). Uma amostra em branco foi preparada nas mesmas condições.

Figura 10 - (A) Mudança na coloração, (B) na titulação volumétrica



Fonte: autora, 2025.

4.5.3 Determinação do índice de TBARS

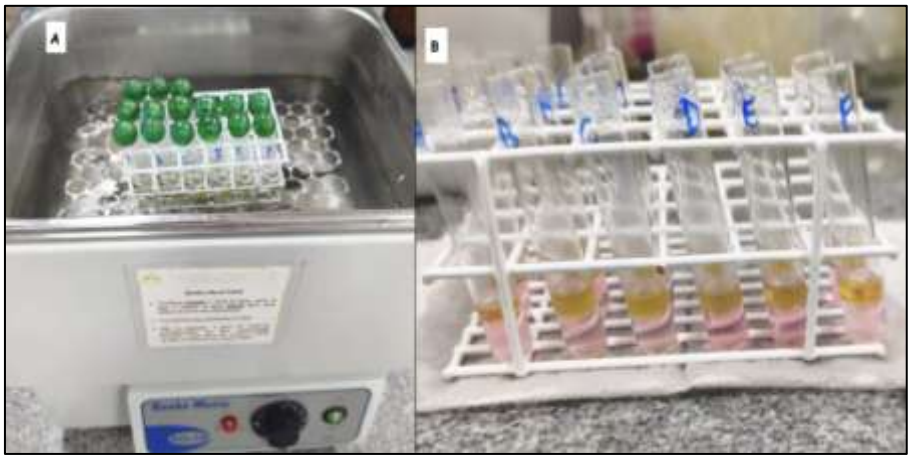
O índice de TBARS é amplamente utilizado como parâmetro indicativo da oxidação lipídica em alimentos ricos em gordura, como óleos e azeites. Esse método baseia-se na quantificação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, principalmente o malonaldeído

(MDA), um dos principais produtos formados durante a decomposição de ácidos graxos insaturados. A análise foi realizada conforme a metodologia descrita por Buege e Aust (1978).

Embora não haja um valor limite regulamentado oficialmente para o índice de TBARS em azeites, valores inferiores a 1,0 mg MDA/kg são geralmente aceitos na literatura como indicativos de baixa oxidação lipídica, preservando a qualidade e estabilidade do azeite.

Para a análise, foi preparada uma solução estoque de TBA, contendo 0,375 % de ácido tiobarbitúrico (0,75 g), 15 % de ácido tricloroacético (30 g), ácido clorídrico 0,25 N, completando-se o volume final para 100 mL. Foi pesada 1 g da amostra de azeite e transferida para um tubo de centrífuga. Em seguida, adicionaram-se 5 mL da solução estoque de TBA. A mistura foi então homogeneizada e submetida ao aquecimento em banho-maria a 100 °C por 10 minutos, com o objetivo de promover a reação entre os compostos oxidativos da amostra e o ácido tiobarbitúrico (Figura 11). Com o auxílio de uma pipeta, uma porção do sedimento foi transferida para uma cubeta de leitura. A absorbância foi medida a 532 nm em espectrofotômetro, utilizando-se como branco uma solução contendo todos os reagentes, exceto a amostra de azeite. Os resultados foram expressos em ppm de malonaldeído, com base no coeficiente de extinção molar da complexação TBA-malondialdeído, considerado como $1{,}56 \times 10^5\ M^{-1}\ cm^{-1}$.

Figura 11 - (A) Amostras em Banho-Maria; (B) Separação do sobrenadante/sedimento



Fonte: autora, 2025.

As análises foram realizadas em triplicata e o valor de TBARS presente nas amostras foi calculado a partir da equação 4.

$$\text{Amostra } A_{532} \times 2{,}77 = \text{Valor de TBARS (ppm)} \qquad \text{(Equação 4)}$$

Onde: Amostra A_{532} = leitura da absorbância; 2,77 = fator de conversão.

4.6 Análises estatísticas

As análises dos parâmetros físico-químicos (Índice de acidez, índice de peróxidos e TBARS) foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos pela média ± desvio padrão. Os resultados obtidos para a atividade antimicrobiana foram expressos em concentração inibitória mínima (CIM – µg/mL) e concentração bactericida mínima (CBM – µg/mL).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises dos OEs por CG-EM

Os OEs das folhas de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), da casca do fruto de limão siciliano (*Citrus limon*) e das folhas de orégano (*Origanum vulgare*) investigados neste trabalho foram analisados por CG-EM e os resultados estão apresentados nos itens 5.1.1, 5.1.2 e 5.1.3 a seguir.

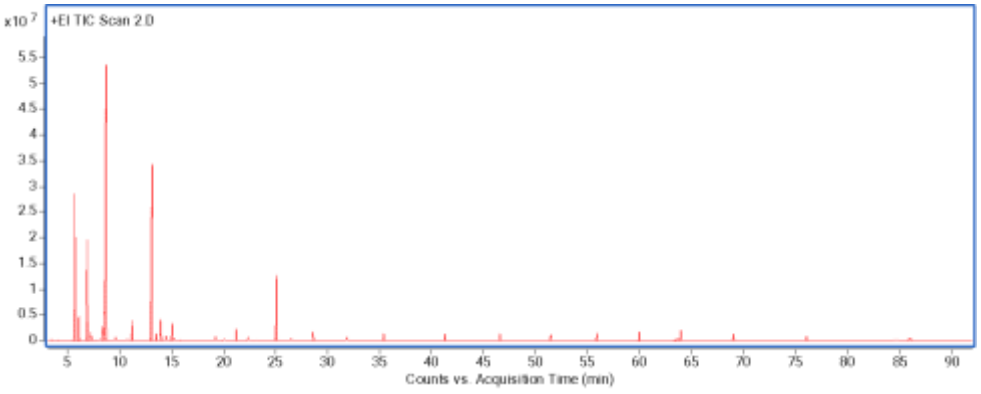
Embora os OEs tenham sido obtidos comercialmente e acompanhados de laudos do fabricante que indicam seus principais constituintes, realizou-se a análise por CG-EM com o objetivo de obter o perfil químico completo dos OEs.

A caracterização química por CG-EM foi conduzida exclusivamente com os OEs puros, considerando que o azeite de oliva apresenta elevada proporção de triglicerídeos e outros compostos de alto peso molecular, os quais não podem ser analisados sob as mesmas condições empregadas para os OEs.

5.1.1 Anotação dos constituintes do OEA por CG-EM

O OEA foi analisado por CG-EM e o cromatograma obtido está apresentado na Figura 12. Os constituintes químicos anotados estão apresentados na Tabela 4. Um total de 47 compostos foi anotado, compreendendo 99,62 % da composição do OEA. A classe de metabólitos majoritária no OE é composta por monoterpenos oxigenados. O Gráfico 1 apresenta a distribuição das classes de compostos encontradas no OEA.

Figura 12 - Cromatograma do OEA obtido por CG-EM



Fonte: autora, 2025.

Tabela 4 - Compostos anotados no OEA por CG-EM

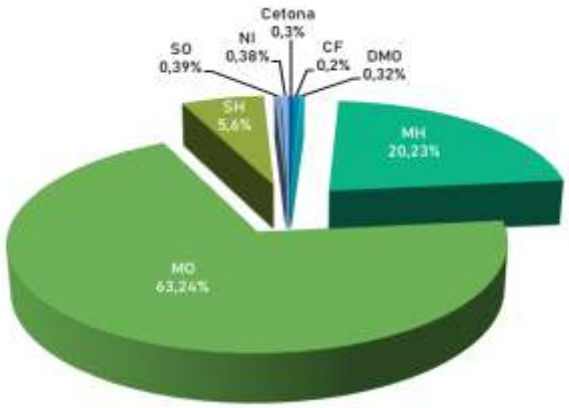
N.	TR[a]	IA (Lit)[b]	IA (Cal)[c]	Compostos anotados[d]	Classe de metabólito	%[e]
1	3,44	--	818	N.I	--	0,10
2	4,10	--	857	N.I	--	0,05
3	5,40	921	922	Tricicleno	MH	0,07
4	5,51	924	925	α-Tujeno	MH	0,05
5	5,70	932	933	α-Pineno	MH	9,72
6	6,09	946	948	Canfeno	MH	1,52
7	6,24	953	953	Tuja-2,4(10)-dieno	MH	0,01
8	6,77	969	973	Sabineno	MH	0,05
9	6,89	974	977	β-Pineno	MH	6,64
10	7,13	979	986	Octan-3-one	Cetona	0,03
11	7,24	990	990	β-Mirceno	MH	0,49
12	7,70	1002	1006	α-Felandreno	MH	0,05
13	7,91	1008	1011	3-Careno	MH	0,02
14	8,11	1014	1017	α-Terpineno	MH	0,12
15	8,40	1020	1024	*p*-Cimeno	MH	1,28
16	8,72	1026	1033	Eucaliptol (1,8-Cineol)	MO	37,6
17	9,51	--	1055	N.I	--	0,04
18	9,60	1054	1057	γ-Terpineno	MH	0,22
19	9,96	1068	1067	Sabineno hidrato	MO	0,01
20	10,16	1067	1073	Linalol oxido	MO	0,01
21	10,73	1086	1088	Terpinoleno	MH	0,12
22	11,19	1098	1101	Linalol	MO	1,34
23	11,78	1114	1115	α-Fenchol	MO	0,05
24	12,26	1122	1126	α-Canfolenal	MO	0,01
25	12,85	1135	1140	(*E*)-Pinocarveol	MO	0,13
26	13,12	1141	1146	Cânfora	MO	20,12
27	13,81	1160	1162	Pinocarvona	MO	0,06
28	13,95	1165	1166	Borneol	MO	1,70
29	14,43	1174	1177	Terpinen-4-ol	MO	0,35
30	14,79	1179	1186	*p*-cimen-8-ol	MO	0,06
31	15,01	1186	1191	α-Terpineol	MO	1,26
32	15,27	1194	1197	Mirtenol	MO	0,20
33	15,85	1204	1210	Verbenona	MO	0,07
34	16,26	1215	1219	(Trans)-Carveol	MO	0,01
35	16,64	--	1228	N.I	--	0,03
36	18,50	1266	1270	Trans-Ascaridol glicol	MO	0,01
37	18,90	--	1279	N.I	--	0,02
38	19,20	1287	1286	(Iso)bornil acetato	DMO	0,32
39	19,61	1289	1295	Timol	MO	0,01
40	20,02	1298	1304	Carvacrol	MO	0,15
41	20,16	--	1307	N.I	--	0,03
42	20,94	--	1325	N.I	--	0,03
43	22,35	1356	1357	Eugenol	CF	0,28
44	22,95	1373	1371	Ilangeno	SH	0,01

45	23,14	1374	1375	α-Copaeno	SH	0,03
46	24,49	1408	1406	(*Z*)-Cariofileno	SH	0,03
47	25,06	1419	1419	(*E*)-Cariofileno	SH	5,28
48	25,40	--	1427	N.I	--	0,02
49	26,32	--	1449	N.I	--	0,01
50	26,48	1452	1453	α-Humuleno	SH	0,19
51	27,47	1478	1476	γ-Muuroleno	SH	0,01
52	28,81	1505	1508	β-Bisaboleno	SH	0,04
53	29,06	1513	1514	γ-Cadineno	SH	0,02
54	29,43	1522	1523	δ-Cadineno	SH	0,02
55	30,62	--	1553	N.I	--	0,02
56	31,86	1582	1583	Cariofileno óxido	SO	0,37
57	32,91	1608	1609	Humuleno epóxido	SO	0,02
58	33,98	1639	1637	N.I	--	0,02
59	42,90	--	1879	N.I	--	0,01

Fonte: autora, 2025.

Legenda: [a] Tempo de Retenção (minutos). [b] Índices aritméticos tabelados de acordo com Adams (2007).[c] Índices aritméticos calculados sobre uma coluna DB-5 em comparação com padrões de alcanos C7 a C40. [d] Compostos anotados a partir da comparação dos espectros de massas com o banco de dados NIST (2023). [e] Área relativa de cada pico no cromatograma. MH: Monoterpeno hidrocarboneto. MO: Monoterpeno oxigenado. SH: Sesquiterpeno hidrocarboneto. SO: Sesquiterpeno oxigenado. CF: Composto fenólico. DMO: Derivado de monoterpeno oxigenado.

Gráfico 1 - Classes dos metabólitos anotadas por CG-EM no OEA



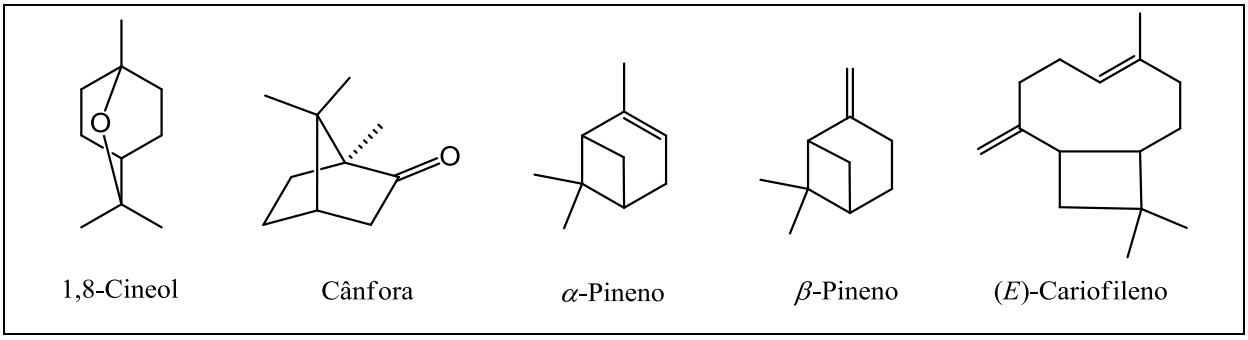
Fonte: autora, 2025.

Legenda: NI: Composto não identificado. MH: Monoterpeno hidrocarboneto. MO: Monoterpeno oxigenado. SH: Sesquiterpeno hidrocarboneto. SO: Sesquiterpeno oxigenado. CF: Composto fenólico. DMO: Derivado de monoterpeno oxigenado.

A composição química do OEA é constituída principalmente de monoterpenos oxigenados (62,24 %), monoterpenos hidrocarbonetos (20,23 %) e sesquiterpenos hidrocarbonetos (5,6 %). Os constituintes majoritários foram os monoterpenos eucaliptol (1,8-cineol) (37,6 %), cânfora (20,1 %), α-pineno (9,7 %) e β-pineno (6,6 %) e ainda (E)-cariofileno (5,2 %), um sesquiterpeno hidrocarboneto.

As estruturas desses compostos estão apresentadas na Figura 13.

Figura 13 - Compostos majoritários no OEA



Fonte: autora, 2025.

Os compostos anotados no OEA analisado neste estudo estão em concordância com o perfil químico descrito em diversos trabalhos realizados no Brasil e em outros países, incluindo os compostos majoritários eucaliptol (1,8-cineol), cânfora e α-pineno (Borges *et al*., 2019; Walid *et al*., 2022; Jiang *et al*., 2011; Rathore *et al.*, 2022). O OEA apresentou porcentagens desses compostos majoritários dentro do relatado nesses estudos comparativos supracitados, nos quais as concentrações de 1,8-cineol variaram entre 26,54 % e 57,55 %, as de cânfora entre 7,05 % e 31,5 % e α-pineno entre 8,83 % e 20,14 %. Além disso, o OEA investigado apresentou a mesma tendência observada quanto à distribuição por classes de compostos, seguindo a ordem: monoterpenos oxigenados > monoterpenos hidrocarbonetos > sesquiterpenos hidrocarbonetos (Walid *et al*., 2022; Rathore *et al*., 2022).

No trabalho de Soliman *et al.* (2024) com o OEA obtido de exemplares de *R. officinalis* coletados na costa oeste do Egito, o composto majoritário foi o monoterpeno verbenona (39,48 %), seguido por α-pineno (17,52 %), 1,8-cineol (10,17 %) e cânfora (8,57 %). Neste trabalho, verbenona foi anotada, entretanto, com porcentagem de 0,07 % na composição do óleo. Embora cada espécie vegetal tenha um metabolismo biossintético capaz de direcionar a síntese para determinados metabólitos especiais, variações qualitativas e quantitativas podem ser observadas quando diferentes estudos na literatura com OEA e outros OEs são comparados.

Vários fatores podem promover alterações na composição química do OEs tais como localização geográfica, sazonalidade, condições climáticas, tipo de solo, estágio de crescimento, condições de cultivo, condições de estocagem, métodos de extração, além de métodos e técnicas analíticas. Portanto, devido a esses vários fatores, é importante realizar a caracterização fito-química e verificar as concentrações dos compostos ativos no óleo

essencial. É relevante destacar que as propriedades biológicas dos OEs podem variar de acordo com suas composições químicas, o que reforça a necessidade de identificar os constituintes presentes e suas respectivas concentrações (Borges *et al*., 2019; Rathore *et al*., 2022; Yu, 2025).

Com relação ao laudo apresentado pelo fornecedor, os principais componentes do OEA foram eucaliptol (46,27 %), cânfora (17,70 %), *α*-pineno (13,45 %), *β*-pineno (7,79 %) e limoneno (2,61 %). Com exceção do monoterpeno limoneno, que não foi detectado dentro da análise por CG-EM, os demais compostos foram encontrados como majoritários. As variações nas concentrações entre a análise deste estudo e o laudo podem ser justificadas pelos fatores apontados anteriormente.

Outro ponto a ser observado é que a própria manipulação do OEA para os experimentos possibilita a volatilização de constituintes modificando a concentração inicial informada pelo fornecedor.

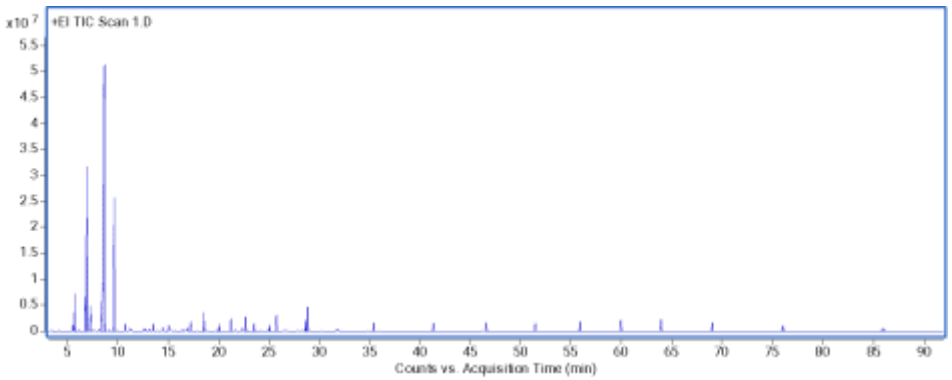
5.1.2 Anotação dos constituintes do OELS por CG-EM

O perfil cromatográfico do OELS por CG-EM está apresentado na Figura 14 e na Tabela 5 estão os constituintes químicos anotados na composição química do OELS.

Um total de 70 compostos foi detectado e 60 compostos foram anotados, compreendendo 99,0 % da composição do OELS. A classe de metabólitos majoritária no OE é composta por monoterpenos hidrocarbonetos.

O Gráfico 2 apresenta a distribuição das classes de compostos encontradas no OELS.

Figura 14 - Cromatograma do OELS obtido por CG-EM



Fonte: autora, 2025.

Tabela 5 - Compostos anotados no OELS por CG-EM

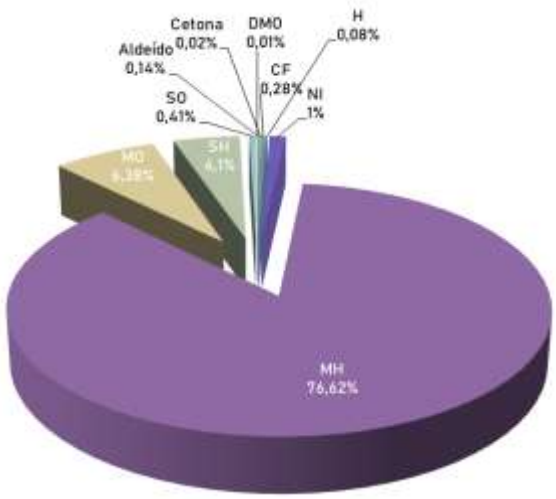
N.	TR[a]	IA (Lit)[b]	IA (Cal)[c]	Compostos anotados[d]	Classe de metabólito	%[e]
1	4,10	--	857	N.I	--	0,05
2	5,49	924	925	*α*-Tujeno	MH	0,40
3	5,69	932	933	*α*-Pineno	MH	2,30
4	6,01	946	948	Canfeno	MH	0,11
5	6,77	969	973	Sabineno	MH	2,37
6	6,90	974	978	*β*-Pineno	MH	11,94
7	7,14	986	985	6-metilhept-5-en-2-ona	Cetona	0,02
8	7,26	991	991	*α*-Mirceno	MH	1,54
9	7,64	998	1004	Octanal	Aldeído	0,05
10	7,72	1002	1006	*α*-Felandreno	MH	0,03
11	8,12	1014	1017	*α*-Terpineno	MH	0,15
12	8,67	1024	1032	D-Limoneno	MH	47,82
13	8,84	1032	1036	*(Z)-β*-Ocimeno	MH	0,06
14	9,20	1044	1046	*(E)-β*-Ocimeno	MH	0,11
15	9,64	1059	1058	*γ*-Terpineno	MH	9,32
16	9,96	1065	1067	4-Thujanol	MO	0,06
17	10,73	1088	1088	*α*-Terpinoleno	MH	0,45
18	10,94	1090	1094	6,7-Epoximirceno	MO	0,02
19	11,07	1093	1097	Rosefuran	MH	0,02
20	11,19	1098	1101	Linalool	MO	0,26
21	11,35	1100	1104	Nonanal	Aldeído	0,09
22	12,05	1119	1121	Trans-Menta-2,8-dien-1-ol	MO	0,03
23	12,56	1132	1133	*Cis*-Limoneno óxido	MO	0,21
24	12,75	1137	1137	*Trans*-Limoneno óxido	MO	0,20
25	13,07	1141	1145	Cânfora	MO	0,18
26	13,39	1148	1153	Citronelal	MO	0,05
27	13,96	--	1166	N.I	--	0,10
28	14,44	1174	1177	Terpinen-4-ol	MO	0.30
29	14,79	1179	1185	*p*-Cimen-8-ol	MO	0,03
30	15,02	1186	1191	*α*-terpineol	MO	0,44
31	15,24	--	1196	N.I	--	0,08
32	15,65	1201	1205	Decanal	Aldeído	0,05
33	16,25	1215	1219	Trans-Carveol	MO	0,03
34	16,44	--	1223	N.I	--	0,14
35	16,67	1229	1229	Nerol	MO	0,06
36	16,87	--	1233	N.I	--	0,22
37	17,21	1235	1241	Neral	MO	0,69
38	17,82	1249	1254	Geraniol	MO	0,06
39	18,53	1264	1270	Geranial (Citral)	MO	1,35
40	18,67	1269	1274	Perila aldeído	MO	0,07
41	18,91	--	1279	N.I	--	0,03
42	19,61	1289	1295	Timol	MO	0,05
43	20,03	1298	1304	Carvacrol	MO	0,61
44	20,94	--	1325	N.I	--	0,04
45	21,60	--	1340	N.I	--	0,15
46	22,19	1352	1353	Citronelil acetato	MO	0,04

47	22,36	1356	1357	Eugenol	CF	0,28
48	22,69	1359	1365	Neril acetato	MO	1,07
49	23,52	1379	1384	Geranil acetato	MO	0,57
50	24,18	1400	1399	Tetradecano	H	0,05
51	24,86	1411	1415	Cis-*α*-bergamoteno	SH	0,07
52	25,04	1419	1419	(*E*)-Cariofileno	SH	0,51
53	25,74	1432	1435	Trans-*α*-bergamoteno	SH	1,24
54	26,50	1452	1453	*α*-Humuleno	SH	0,05
55	26,64	1456	1456	(*E*)-β-Farneseno	SH	0,07
56	26,78	1457	1460	β-Santaleno	SH	0,05
57	27,41	1476	1475	Geranil propanoato	DMO	0,01
58	27,60	1481	1479	*α*-Curcumeno	SH	0,01
59	27,82	--	1484	N.I	--	0,06
60	28,18	1496	1493	Valenceno	SH	0,09
61	28,43	1500	1499	Pentadecano	H	0,03
62	28,83	1505	1508	*β*-Bisaboleno	SH	1,88
63	29,08	1513	1514	*γ*-Cadineno	SH	0,06
64	29,43	1523	1523	*δ*-Amorfeno	SH	0,02
65	30,22	1542	1542	(*Z*)-α-Bisaboleno	SH	0,05
66	31,66	1577	1578	Espatulenol	SO	0,12
67	31,87	1582	1583	Cariofileno óxido	SO	0,21
68	32,92	1608	1609	Humuleno epóxido	SO	0,02
69	35,89	1685	1686	*α*-Bisabolol	SO	0,06
70	46,26	--	1974	N.I	--	0,10

Fonte: autora, 2025.

Legenda: [a] Tempo de Retenção (minutos). [b] Índices aritméticos tabelados de acordo com Adams (2007).[c] Índices aritméticos calculados sobre uma coluna DB-5 em comparação com padrões de alcanos C7 a C40. [d] Compostos anotados a partir da comparação dos espectros de massas com o banco de dados NIST (2023). [e] Área relativa de cada pico no cromatograma. MH: Monoterpeno hidrocarboneto. MO: Monoterpeno oxigenado. SH: Sesquiterpeno hidrocarboneto. SO: Sesquiterpeno oxigenado. CF: Composto fenólico. DMO: Derivado de monoterpeno oxigenado.

Gráfico 2 - Classes dos metabólitos anotadas por CG-EM no OELS.

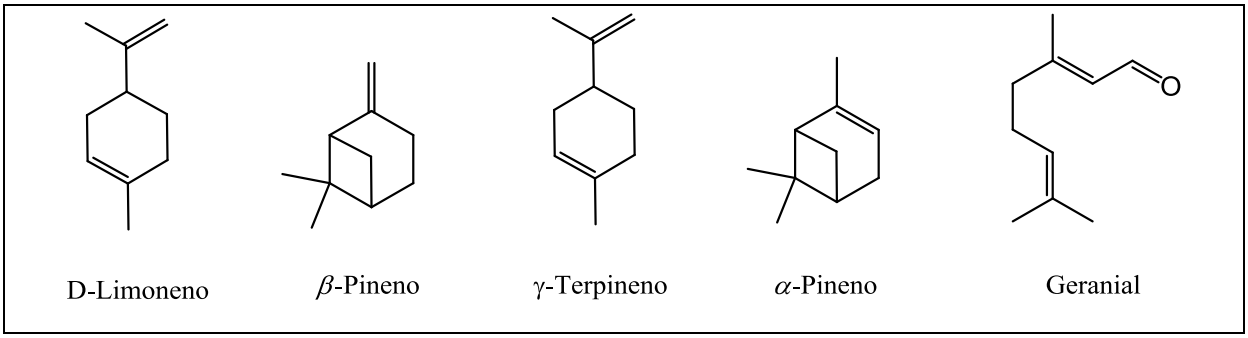


Fonte: autora, 2025.

Legenda: NI: Composto não identificado. MH: Monoterpeno hidrocarboneto. MO: Monoterpeno oxigenado. SH: Sesquiterpeno hidrocarboneto. SO: Sesquiterpeno oxigenado. CF: Composto fenólico. DMO: Derivado de monoterpeno oxigenado.

A composição química do OELS é constituída principalmente de monoterpenos hidrocarbonetos (76,62 %). Monoterpenos oxigenados e sesquiterpenos hidrocarbonetos representaram 6,38 % e 4,1 % da composição do OELS, respectivamente. O monoterpeno D-limoneno (47,8 %) é o principal componente químico deste OE, seguido por *β*-pineno (11,94 %), *γ*-terpineno (9,32 %), sabineno (2,4 %), *α*-pineno (2,3 %), *β*-Bisaboleno (1,88 %) e citral (1,35 %). As estruturas desses compostos estão apresentadas na Figura 15.

Figura 15 - Compostos majoritários no OELS



Fonte: autora, 2025.

Esses compostos também são relatados como principais constituintes na composição do OELS em vários outros estudos, sendo os monoterpenos hidrocarbonetos a classe de metabólitos majoritária (Kacaniová *et al*., 2024; Aboubi *et al*., 2023; Viana *et al*., 2020; Bora *et al*., 2020; Himed *et al*., 2019; Everton *et al*., 2025). No trabalho de Paw *et al*. (2020), os compostos majoritários no OELS foram D-limoneno, trans-verbenol, neral e decanal. No OELS investigado por Ben Hsouna *et al*. (2017), D-limoneno, seguido por *α*-terpineol, *α*-pineno, linalil acetato, geranil acetato e linalol foram encontrados como majoritários.

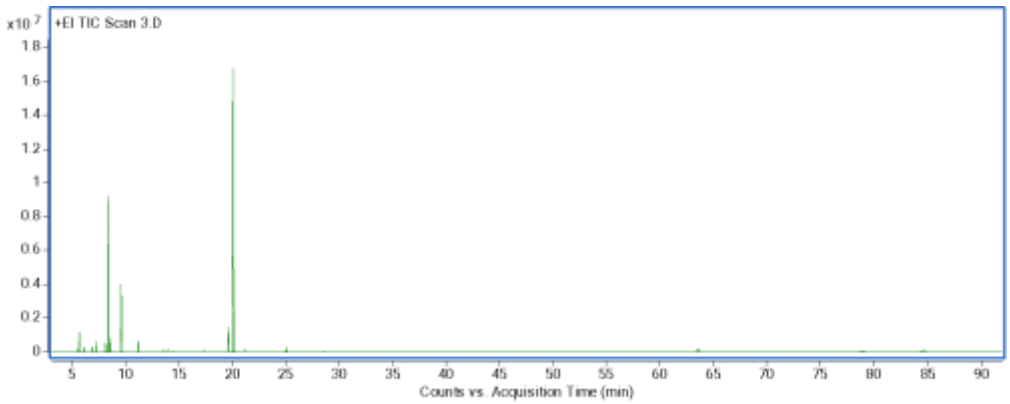
No presente trabalho, decanal, α-terpineol, geranil acetato, elinalol foram encontrados em baixas concentrações, enquanto trans-verbenol, linalil acetato não foram detectados, nem nos estudos de Kacaniová *et al*. (2024), Aboubi *et al*. (2023), Viana *et al*. (2020), Bora *et al*. (2020) e Himed *et al*. (2019). As variações qualitativas e quantitativas observadas comparando os vários estudos com o OELS podem ocorrer e os possíveis fatores que justificam essas situações foram discutidos com o OEA.

No laudo apresentado pelo fornecedor são destacados como componentes principais apenas d-limoneno e citral, não sendo mencionados *β*-pineno, *γ*-terpineno, sabineno e *α*-pineno. Entretanto, a composição química determinada para o OELS está de acordo com outros trabalhos que analisaram o OELS.

5.1.3 Anotação dos constituintes do OEO por CG-EM

O cromatograma OEO obtido por CG-EM está apresentado na Figura 16 e na Tabela 6 estão os constituintes químicos anotados na composição química do OEO. Vinte e quatro compostos foram detectados e 21 foram anotados, compreendendo 98,13 % da composição do OEO. As classes de metabólitos majoritários no OEO foram os monoterpenos oxigenados (61,0 %) e monoterpenos hidrocarbonetos (36,0 %), O Gráfico 3 apresenta a distribuição das classes de compostos encontradas no OEO.

Figura 16 - Cromatograma do OEO obtido por CG-EM



Fonte: autora, 2025.

Tabela 6 - Compostos anotados no OEO por CG-EM

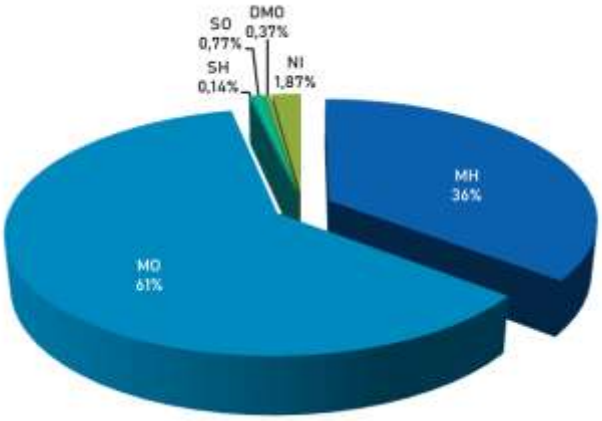
N.	TR[a]	IA (Lit)[b]	IA (Cal)[c]	Compostos anotados[d]	Classe de metabólito	%[e]
1	3,43	--	818	N.I	--	0,10
2	4,09	--	857	N.I	--	0,06
3	5,49	924	925	α-Tujeno	MH	0,27
4	5,68	932	933	α-Pineno	MH	2,10
5	6,08	946	948	Canfeno	MH	0,56
6	6,88	974	977	β-Pineno	MH	0,64
7	7,23	990	990	β-Mirceno	MH	1,23
8	7,69	1002	1005	α-Felandreno	MH	0,13
9	8,10	1017	1017	α-Terpineno	MH	1,11
10	8,37	1020	1024	*p*-Cimeno	MH	18,32
11	8,51	1024	1027	D-Limoneno	MH	1,67
12	8,63	1026	1031	Eucaliptol (1,8-Cineol)	MO	0,23
13	8,85	--	1037	N.I	--	0,06
14	9,59	1054	1057	γ-Terpineno	MH	8,25

15	9,95	1065	1067	4-Thujanol	MO	0,09
16	11,19	1098	1101	Linalol	MO	1,58
17	13,94	1165	1166	Endo-Borneol	MO	0,47
18	14,43	1174	1177	Terpinen-4-ol	MO	0,21
19	15,01	1186	1191	*α*-Terpineol	MO	0,07
20	17,32	1241	1243	Carvacrol metil éter	DMO	0,37
21	19,61	1289	1295	Timol	MO	3,53
22	20,07	1305	1305	Carvacrol	MO	50,50
23	25,03	1419	1419	(*E*)-Cariofileno	SO	0,77
24	28,81	1505	1508	*β*-Bisaboleno	SH	0,14

Fonte: autora, 2025.

Legenda: [a] Tempo de Retenção (minutos). [b] Índices aritméticos tabelados de acordo com Adams (2007).[c] Índices aritméticos calculados sobre uma coluna DB-5 em comparação com padrões de alcanos C7 a C40. [d] Compostos anotados a partir da comparação dos espectros de massas com o banco de dados NIST (2023). [e] Área relativa de cada pico no cromatograma. MH: Monoterpeno hidrocarboneto. MO: Monoterpeno oxigenado. SH: Sesquiterpeno hidrocarboneto. SO: Sesquiterpeno oxigenado. CF: Composto fenólico. DMO: Derivado de monoterpeno oxigenado.

Gráfico 3 - Classes dos metabólitos anotadas por CG-EM no OEO.



Fonte: autora, 2025.

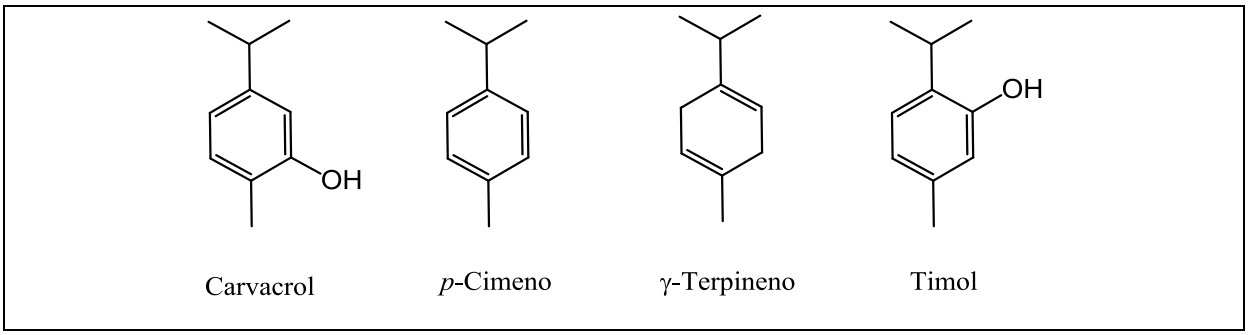
Legenda: NI: Composto não identificado. MH: Monoterpeno hidrocarboneto. MO: Monoterpeno oxigenado. SH: Sesquiterpeno hidrocarboneto. SO: Sesquiterpeno oxigenado. CF: Composto fenólico. DMO: Derivado de monoterpeno oxigenado.

A composição química do OEO apresentou o predomínio de carvacrol (50,5 %), um monoterpeno oxigenado de natureza fenólica, seguido por *p*-cimeno (18,3 %), *γ*-terpineno (8,3 %) e timol (3,5 %). As estruturas químicas desses compostos estão presentes na Figura 17. Em conteúdos mais baixos, ainda foram também anotados α-pineno (2,1 %), D-limoneno (1,67 %) e linalol (1,6 %).

Os compostos majoritários anotados bem como a predominância de monoterpenos oxigenados no OEO estão de acordo com Morshedloo *et al*. (2018) e Avola *et al*. (2020).

No OEO analisado por Hao, Li e Shi (2021) foram encontrados como majoritários coincidentes com o presente estudo carvacrol (84,38 %) e *p*-cimeno (5,07 %).

Figura 17 - Compostos majoritários no OEO



Fonte: autora, 2025.

No trabalho de Ihamdane *et al.* (2023) foram encontrados carvacrol, timol, (E)-*β*-ocimeno e *α*-terpineno como fito-químicos majoritários no OEO. Comparando todos os estudos mencionados acima, mesmo com variações qualitativas consideráveis entre os constituintes principais, o monoterpeno oxigenado carvacrol, foi em todos eles o fito-químico majoritário. Entretanto, Jnaid *et al*. (2016) evidenciaram terpinen-4-ol (24,90 %), *γ*-terpineno (10,57 %), *o*-cimeno (8,90 %), *cis*-*β*-terpineol (8,73 %), *β*-felandreno (4,84 %), *α*-terpineol (4,18 %) como os componentes mais abundantes e carvacrol revelou um conteúdo de apenas 3,5 % da composição do OEO.

Comparando todos esses estudos, é possível verificar a complexidade da composição química dos OEs. Os OEs mesmo que preparados a partir de mesmas espécies, porém em localizações geográficas e condições climáticas diferentes, podem apresentar variações consideráveis na sua composição refletindo diretamente na sua qualidade e nos seus efeitos biológicos (Rabeh *et al*., 2025).

5.2 Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em disco

O ensaio preliminar de difusão em disco foi conduzido com o objetivo de verificar o efeito antibacteriano dos tratamentos propostos com azeites adicionados de OEs frente às cepas bacterianas investigadas.

Os resultados obtidos para os azeites suplementados com OEA, OELS e OEO, nas concentrações de 0,05 %, 0,10 % e 0,15 % (v/v), avaliados pelo método de difusão em disco, estão apresentados na Tabela 7. Como referência para comparação da atividade

antimicrobiana, utilizaram-se 10 µg do antibiótico gentamicina, empregado como controle positivo, conforme descrito em estudos semelhantes na literatura. Zonas de inibição foram consideradas resultados positivos, indicando capacidade de inibir o crescimento microbiano; já a ausência de halos foi interpretada como resultado negativo, evidenciando o crescimento do microrganismo.

Tabela 7 - Resultados do ensaio de difusão em disco

Microrganismo	**Amostras**										
	AOE + OEA			**AOE + OELS**			**AOE + OEO**			**AOE**	**C+**
	0,05%	0,10%	0,15%	0,05%	0,10%	0,15%	0,05%	0,10%	0,15%	100%	
S. aureus	-	-	-	-	-	-	-	-	+	–	+
E. coli	-	-	-	-	-	-	+	+	+	–	+
S. typhimurium	-	-	-	-	-	-	+	+	+	–	+

Fonte: autora, 2025.

Legenda: OEA: óleo essencial de alecrim. OELS: óleo essencial de limão siciliano. OEO: óleo essencial de orégano. Controle +: Gentamicina.

O AOE puro (controle) não demonstrou efeito antibacteriano contra as cepas testadas pelo método de difusão em disco e o controle positivo apresentou atividade contra todos os micro-organismos testados. Os OEA e OELS também não evidenciaram atividade nas concentrações testadas de 0,05%, 0,10% e 0,15% em v/v.

O OEO demonstrou atividade frente à *E. coli*, verificando-se relação positiva entre a concentração e a intensidade de inibição. Contra *S. aureus*, a atividade inibitória foi observada exclusivamente na concentração de 0,15%. Já frente à *S. typhimurium*, observou-se inibição com halo menor em todas as concentrações testadas (0,05%, 0,10% e 0,15% v/v).

Dentro dessa triagem inicial, entre as amostras analisadas, apenas o OEO apresentou efeito antibacteriano contra todas as bactérias testadas.

5.3 Avaliação da atividade antibacteriana pelo método da microdiluição em caldo

A avaliação quantitativa da atividade antibacteriana foi realizada utilizando o ensaio de microdiluição em caldo para CIM e CBM expressas em µg/mL. A CIM é a menor

concentração capaz de inibir o crescimento microbiano e a CBM é a menor concentração capaz de matar o micro-organismo. A Tabela 8 apresenta os resultados obtidos para os azeites com a adição dos OEA, OELS e OEO.

O AOE e os azeites com a adição dos OEs de alecrim e limão siciliano não apresentaram atividade no intervalo de concentração testado (1,46 a 3000 µg/mL), uma vez que os valores de CIM e CBM foram superiores a 3000 µg/mL para todas as cepas avaliadas.

O OEO apresentou atividade antibacteriana frente às três cepas avaliadas, com valores de CIM/CBM iguais a 1500/1500 µg/mL para *S. aureus* e *S. typhimurium* e para *E. coli* 750/750 µg/mL Quando a CIM/CBM foram de 1500 µg/mL há uma concentração de 1 % em v/v de OEO; para CIM/CBM igual a 750 µg/mL há uma concentração de 0,5 % em v/v de OEO.

Esses resultados indicam que o OEO promove um efeito antibacteriano adicional ao azeite, seja inibindo o crescimento ou promovendo a morte das bactérias investigadas, especialmente contra a cepa de *E. coli* que apresentou menores valores de CIM e CBM.

Tabela 8 - CIM e CBM dos azeites incorporados com OEs

Amostras	**Resultados de CIM/CBM (µg/mL)**		
	S. aureus [a]	***E. coli*** [b]	***S. typhimurium*** [c]
AOE	>3000/>3000	>3000/>3000	>3000/>3000
AOE + OEA	>3000/>3000	>3000/>3000	>3000/>3000
AOE + OELS	>3000/>3000	>3000/>3000	>3000/>3000
AOE + OEO	1500/1500	750/750	1500/1500

Fonte: autora, 2025.

Legenda: AOE: azeite de oliva extravirgem. OEA: óleo essencial de alecrim. OELS: óleo essencial de limão siciliano. OEO: óleo essencial de orégano. Bactéria: [a] Gram-positiva anaeróbia facultativa, [b] Gram-negativa anaeróbia facultativa, [c] Gram-negativa anaeróbia facultativa. Bactérias controle para validação do método de acordo com o protocolo M11-A7 CLSI (2012): *S. aureus* – CIM/CBM: 0,3688/0,3688 µg/mL; *E. coli* - CIM/CBM: 0,7375/0,7375 µg/ml.

Embora as comparações sejam dificultadas pelas diferenças metodológicas entre os estudos, é possível encontrar na literatura alguns trabalhos que relatam a atividade antimicrobiana do OEO e podem justificar os resultados obtidos.

Jnaid *et al*. (2016) relataram que o OEO apresentou atividade antimicrobiana contra *Candida albicans, P. aeruginosa, E. coli* e *S. aureus* com valores de CIM variando entre 312

e 50 µg/mL e para *K. pneumoniae, P. aeruginosa e Staphylococcus saprophyticus,* foram observados valores de CIM de 256 µg/mL. Além disso, o OEO também demonstrou efeito sinérgico quando combinado com os antibióticos ampicilina, gentamicina e ceftazidima.

Em outro estudo, Bussata *et al.* (2007) o OEO foi avaliado frente a diferentes microrganismos incluindo, *E. faecalis, E. coli, K. pneumonae, Salmonella choleraensius* e *Shigella flexneri* apresentando CIM´s entre 230 e 460 µg/mL, quando incorporado em linguiças, o OEO contribuiu para o aumento do tempo de vida útil do produto

Outros trabalhos ainda podem ser citados evidenciando o efeito antimicrobiano do OEO. Em estudo conduzido por Hao, Li e Shi (2021), o OEO (rico em carvacrol) apresentou atividade contra *S. aureus* com valores de CIM e CBM de 125 e 250 µg/mL, respectivamente. Nesse trabalho o mecanismo de ação do OEO contra *S. aureus* foi relacionado com alguns fatores como alterações na integridade da membrana celular, efeitos sobre a síntese de proteínas e desordens no metabolismo de aminoácidos. No estudo de Tejada-Muñoz *et al*. (2024), o OEO indicou valores de CIM/CBM frente à *S. aureus* de 1900 e 7900 µg/mL, e frente a *E. coli* de 490 e 990 µg/mL. Particularmente nesse trabalho com o OEO, carvacrol não foi identificado e os compostos majoritários foram 2-menten-1-ol, linalil acetato e terpinen-4-ol, os quais foram relacionados com propriedades antimicrobianas. Como pode ser observado, o OEO tem atividade contra uma ampla variedade de microrganismos, incluindo *S. aureus* e *E. coli.* Dessa forma, a atividade encontrada para OEO corrobora esses estudos anteriormente mencionados.

As atividades biológicas dos OEs são geralmente relacionadas com dois a quatro compostos majoritários, os quais podem representar de 20 % a 95 % da composição do OE. Contudo, os constituintes minoritários também podem exercer um papel relevante, contribuindo para as propriedades dos OEs por meio de interações sinérgicas com os compostos majoritários (Abdelmohsen; Elmaidomy, 2025).

Os monoterpenos carvacrol (50,5 %), *p*-cimeno (18,3 %), γ-terpineno (8,3 %) e timol (3,5 %) foram os constituintes majoritários no OEO.

Maczka *et al.* (2023) descrevem que o carvacrol é um monoterpeno fenólico que, isoladamente ou em combinação com outros compostos, apresenta reconhecidas propriedades biológicas, destacando-se pela atividade antimicrobiana frente a um amplo espectro de bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos. Os autores relatam eficácia significativa contra *E. coli* e S. *aureus*, com valores de CIM variando entre 150 e 300 µg/mL e 78 e 450 µg/mL, respectivamente. O mecanismo de ação do carvacrol está principalmente associado à

sua capacidade de provocar danos à membrana celular, sendo a presença do grupo hidroxila e a deslocalização eletrônica do anel aromático fatores estruturais determinantes para sua atividade biológica. Em função de suas propriedades flavorizantes e antimicrobianas, o carvacrol é amplamente empregado na indústria de alimentos como conservante natural.

No trabalho de Ilktac *et al*. (2025), o carvacrol e seu isômero timol testados isoladamente evidenciaram valores de CIM contra *E. faecalis, S. aureus, E. coli* e *K. pneumoniae* de 250 e 500 µg/mL, respectivamente. Nesse mesmo estudo, os OEs investigados ricos em carvacrol indicaram maior atividade antibacteriana que aqueles com baixas concentrações de carvacrol.

O monoterpeno *p*-cimeno é o precursor para a biossíntese do carvacrol e também é reconhecido por apresentar atividade antimicrobiana, tanto isoladamente quanto em combinação com outros constituintes. No entanto, os dados de atividade quando *p*-cimeno é testado isoladamente evidenciam que ele não é o principal responsável pelo efeito antimicrobiano observado em extratos ou OEs de plantas medicinais e alimentícias. Além disso, embora o *p*-cimeno possa contribuir para a atividade, ele tem sido descrito como menos eficiente como um agente antimicrobiano em comparação ao seu derivado carvacrol (Marchese *et al*., 2017).

O monoterpeno *γ*-terpineno foi recentemente relacionado com diversas atividades farmacológicas incluindo o efeito antimicrobiano contra *S. aureus, Salmonella alony, Bacillus subtilis, E. coli* e *P. aeruginosa* (Corrêa; Pina, 2025). No entanto, quando *γ*-terpineno foi testado a uma concentração de 250 µg/mL contra *B. cereus, S. typhimurium, E. coli* e *S. aureus* não foi verificado atividade (Guimarães *et al*., 2019). No trabalho de Baginska *et al*. (2023) vários estudos foram levantados indicando o potencial antimicrobiano de γ-terpineno, especialmente naqueles OEs em que esse monoterpeno é encontrado em altas concentrações. Nesse estudo é destacado também o efeito antimicrobiano dos OEs ricos em *γ*-terpineno e *p*-cimeno.

Com relação aos OEs, é bem entendido que suas propriedades antimicrobianas não são determinadas por apenas um componente. O efeito antimicrobiano geralmente resulta da interação complexa e sinérgica entre os diferentes compostos presentes no óleo. Ou seja, a atividade do OE pode ser dependente das interações entre os seus constituintes majoritários e minoritários. Ainda é importante considerar que o efeito antimicrobiano de um composto pode ser modulado ou potencializado pela presença de outros compostos presentes no OE (Baginska *et al*., 2023).

5.4 Análises dos parâmetros físico-químicos de qualidade

Os resultados dos parâmetros de índice de acidez, índice de peróxidos e teor de TBARS nos azeites de oliva extravirgem incorporados com OEA, OELS e OEO nas concentrações de 0,05 %, 0,15 %, 0,30 % e 0,50 % e do azeite puro (controle) estão apresentados nas Tabelas 9, 10 e 11, respectivamente.

Tabela 9 - Índice de acidez (mg KOH/g) dos azeites incorporados com OEs

Concentrações (% em v/v)	AOE+OEA	AOE+OELS	AOE+OEO	AOE Controle
0,0	--	--	--	0,87 ± 0,06
0,05	0,73 ± 0,06	0,90 ± 0,00	0,70 ± 0,00	--
0,15	0,87 ± 0,06	0,87 ± 0,06	0,80 ± 0,00	--
0,30	0,63 ± 0,06	0,73 ± 0,06	0,70 ± 0,10	--
0,50	0,70 ± 0,00	0,77 ± 0,06	0,63 ± 0,06	--

Fonte: autora, 2025.

Legenda: Valores expressos com média ± desvio padrão (n = 3). AOE: Azeite de oliva extravirgem; OEA: óleo essencial de alecrim. OELS: óleo essencial de limão siciliano. OEO: óleo essencial de orégano.

O AOE foi utilizado como parâmetro de referência para avaliar o efeito da adição dos OEs na acidez do produto final, no qual apresentou média de 0,87 ± 0,06 mg KOH/g. Segundo a legislação brasileira, para um azeite ser classificado como extra virgem, deve apresentar a acidez máxima de 0,8 mg KOH/g (Brasil, 2012). O valor médio encontrado para o controle discretamente acima pode estar relacionado com possíveis alterações promovidas na manipulação do AOE para o preparo dos experimentos. Alguns fatores como temperatura, luz, tempo de prateleira, presença de micro-organismos e umidade favorecem a conversão de triglicerídeos em ácidos graxos livres, aumentando o índice de acidez do AOE.

As amostras contendo OEA apresentaram redução do índice de acidez nas concentrações de 0,05 %, 0,30 % e 0,50 %, com valores entre 0,63 e 0,73 mg KOH/g. O OEA adicionado na concentração de 0,15 % não apresentou redução, mas evidenciou o mesmo valor do obtido para o controle (AOE = 0,87 ± 0,06 mg KOH/g). As amostras com OELS indicaram redução da acidez em relação ao controle nas concentrações de 0,30 % e 0,50 %, com valores de 0,73 e 0,77 mg KOH/g, respectivamente. Nas menores concentrações testadas (0,05 % e 0,15 %), os valores obtidos foram iguais ou superiores ao controle, sugerindo que o OELS em concentrações mais altas, pode promover maior estabilidade na amostra. Os

tratamentos com OEO apresentaram valores inferiores ao controle em todas as concentrações testadas, sendo os resultados obtidos variando de 0,63 a 0,80 mg KOH/g.

Os resultados evidenciaram que, com exceção da amostra AOE+OELS na concentração de 0,05 %, a adição dos OEs de alecrim, limão siciliano e orégano não promoveu aumento do índice de acidez, pelo contrário, a maioria das amostras apresentou valores mais baixos que o observado para o AOE.

Na Tabela 10 estão apresentados os valores de índices de peróxidos determinados para as amostras de azeite com a adição dos OEs.

Tabela 10 - Índice de peróxidos (mEq/kg) dos azeites aromatizados com OEs

Concentrações (% em v/v)	**AOE+OEA**	**AOE+OELS**	**AOE+OEO**	**AOE**
0,0	--	--	--	12,3 ± 1,28
0,05	9,00 ± 0,12	12,3 ± 0,23	17,3 ± 0,06	--
0,15	11,4 ± 0,12	14,5 ± 0,35	12,1 ± 0,06	--
0,30	11,4 ± 0,35	13,6 ± 0,12	14,9 ± 0,06	--
0,50	5,7 ± 0,35	13,7 ± 0,06	15,2 ± 0,12	--

Fonte: autora, 2025.

Legenda: Valores expressos com média ± desvio-padrão (n = 3). AOE: Azeite de oliva extravirgem; OEA: óleo essencial de alecrim. OELS: óleo essencial de limão siciliano. OEO: óleo essencial de orégano.

O AOE usado como controle apresentou valor de 12,3 ± 1,28 mEq/kg, e esse valor foi utilizado como referência para avaliar os efeitos oxidativos da adição dos diferentes OEs ao AOE. Segundo o *Codex Alimentarius* (2003) e a RDC nº 270 da ANVISA (2005), o índice de peróxidos para azeites deve ser inferior a 20 mEq/kg, sendo esse o limite máximo aceitável para garantir qualidade e ausência de rancidez primária. De forma geral, todos os valores para o índice de peróxidos permaneceram dentro do limite considerado aceitável.

As amostras que receberam a adição do OEA apresentaram os menores valores entre os tratamentos, variando de 5,7 a 11,4 mEq/kg, sugerindo melhor controle da oxidação primária do AOE que é representada principalmente pela formação de peróxidos e hidroperóxidos. A redução observada em comparação ao controle (AOE) pode estar associada com a presença de terpenos no OEA adicionado ao AOE e, com compostos fenólicos presentes em menor concentração no OE. Esses componentes podem atuar como antioxidantes, estabilizando radicais livres e interrompendo a etapa inicial da oxidação lipídica.

Especialmente entre os compostos majoritários do OEA, eucaliptol (1,8-cineol), cânfora, *α*-pineno e *β*-pineno são bem conhecidos pelas suas propriedades antioxidantes (Khan, 2025, El Elmari *et al*., 2023; Salehi *et al*., 2019) e, portanto, podem ser os principais contribuintes para a atividade observada. É importante destacar que os demais terpenos anotados em menor concentração no OEA e que possuem potencial antioxidante também podem agir de forma sinérgica com os compostos majoritários reduzindo a oxidação lipídica no AOE.

Em estudo anterior, o OEA adicionado ao azeite já demonstrou capacidade para agir na oxidação lipídica. No trabalho de Juhaimi *et al*. (2016), a adição de OEA ao azeite reduziu significativamente a oxidação em comparação com o controle, medida em valor de peróxidos, corroborando os achados deste estudo, no qual o OEA exerceu efeito antioxidante, diminuindo o índice de peróxidos.

Nos tratamentos que receberam o OELS, apesar dos resultados de índice de peróxidos estarem abaixo do limite de referência (20 mEq/kg), os valores determinados para as concentrações de 0,15 %, 0,3 % e 0,5 % foram superiores ao controle, variando entre 13,6 e 14,5. Apenas na concentração mais baixa testada de 0,05 %, houve um valor de índice de peróxidos semelhante ao controle. No OELS o constituinte majoritário é o D-limoneno, o qual é relacionado a várias propriedades farmacológicas, incluindo a atividade antioxidante (Chen *et al*., 2024). Mesmo com sua presença em elevada concentração no OELS, não houve a redução do índice de peróxidos em relação ao controle em nenhuma das concentrações testadas.

Cruz *et al*. (2022) avaliaram o AOE enriquecido com diferentes OEs e observaram que a adição de OE de limão influenciou os parâmetros de qualidade. Os azeites aromatizados apresentaram aumento no índice de peróxidos, indicando alteração na estabilidade oxidativa, embora os valores permanecessem dentro dos limites aceitáveis para azeites.

Nas amostras de azeite com OEO, os valores variaram entre 12,1 e 17,3 mEq/kg. Com exceção da amostra com 0,15 % de OEO que obteve um valor de índice de peróxido de 12,1 mEq/kg, as demais concentrações apresentaram valores superiores ao controle, porém abaixo do valor de referência.

Olmedo *et al*. (2019) demonstraram que o OEO tem potencial antioxidante**,** sobretudo quando associado a outros antioxidantes ou inserido em matriz favorável. Esse achado contribui para explicar por que o OEO pode reduzir peróxidos em determinadas condições. Asensio, Nepote e Grosso (2011) adicionaram OEO ao azeite extravirgem (0,05 %) e

acompanharam a oxidação sob diferentes condições (luz, temperatura e escuro). As amostras com OEO tiveram valores de peróxidos menores durante o armazenamento, em comparação com o azeite sem OEO que retardou o processo de oxidação lipídica, ajudando a preservar o azeite.

Rathore *et al*. (2022) observaram que em sistemas oleosos, o OEO apresenta boa ação antioxidante, mas esse efeito pode ser menos evidente em concentrações moderadas. Jnaid *et al.* (2016) relataram que o OEO reduziu discretamente a oxidação em alimentos ricos em lipídios.

Na Tabela 11 estão apresentados os valores de TBARS encontrados nas amostras de azeite com a adição dos OEs.

Tabela 11 - Valores de TBARS (mg MDA/kg) dos azeites incorporados com OEs

Concentrações (% em v/v)	**AOE+OEA**	**AOE+OELS**	**AOE+OEO**	**AOE**
0,0	--	--	--	1,2 ± 0,21
0,05	0,9 ± 0,15	1,8 ± 0,10	1,3 ± 0,15	--
0,15	1,2 ± 0,10	1,3 ± 0,15	1,1 ± 0,20	--
0,30	1,2 ± 0,21	1,9 ± 0,10	1,0 ± 0,14	--
0,50	2,0 ± 0,16	1,3 ± 0,15	2,2 ± 0,20	--

Fonte: autora, 2025.

Legenda: Valores expressos com média ± desvio-padrão (n = 3). AOE: Azeite de oliva extravirgem; OEA: óleo essencial de alecrim. OELS: óleo essencial de limão siciliano. OEO: óleo essencial de orégano.

Os valores de TBARS estão relacionados com os efeitos secundários da oxidação, especialmente o malonaldeído (MDA). De acordo com a legislação brasileira para azeite de oliva, valores de TBARS inferiores a 1,0 mg MDA/kg são considerados adequados para produtos de boa qualidade oxidativa (Frankel, 2014; Shahidi; Zhong, 2015). No presente estudo, o valor encontrado para o controle 1,2 ± 0,21 mg MDA/kg foi próximo ao limite recomendado de 1,0 mg MDA/kg.

As amostras com OEA apresentaram valores de TBARS variando entre 0,9 e 2,0 mg MDA/kg, demonstrando bom desempenho nas concentrações de 0,05 %, 0,15 % e 0,30 %, que se mantiveram iguais ou abaixo do controle. No entanto, a concentração de 0,50 % indicou possível atividade pró-oxidante, o que pode estar relacionado à elevada concentração de determinados terpenos ou à saturação da capacidade antioxidante do sistema, favorecendo a formação de produtos oxidativos. Todas as amostras com OEA resultaram em índices de

peróxido inferiores ao controle e também valores de TBARS iguais ou abaixo do controle para as concentrações de 0,05 % a 0,30 %.

Os azeites enriquecidos com OELS apresentaram valores de TBARS entre 1,3 e 1,9 mg MDA/kg, sendo esses resultados discretamente superiores ou superiores ao controle. Os resultados sugerem que o OELS não é adequado para prolongar a estabilidade oxidativa do azeite. Desta forma, destaca-se a importância de considerar não apenas a presença de compostos antioxidantes no OE, mas também sua especificidade de atuação nas diferentes etapas da oxidação lipídica, sendo que cada OE apresentou um parâmetro distinto, conforme já observado em estudos prévios (Burt, 2004; Wang *et al*., 2021).

As amostras com OEO apresentaram os melhores resultados nas concentrações de 0,15 % e 0,3 % com valores de 1,1 e 1,0 mg MDA/kg, respectivamente. Esses dados podem estar associados com os monoterpenos oxigenados majoritários carvacrol e timol presentes no OEO. Esses compostos têm natureza fenólica e por sua vez apresentam consideráveis efeitos antioxidantes (Alagi *et al*., 2017) e portanto, capacidade para reduzir a oxidação lipídica. Entretanto, quando o azeite foi testado contendo 0,50% do OEO, o valor subiu para 2,2 mg MDA/kg, indicando possível efeito pró-oxidante do OEO em concentrações mais elevadas.

Assim, os AOE enriquecidos com OEA (0,05 % a 0,30 %) e com OEO (0,15 % e 0,30 %) apresentaram os melhores desempenhos de acordo com as análises de TBARS. Esses resultados evidenciam que o efeito antioxidante dos OEs depende de sua composição química e concentração. Além disso, o OE pode apresentar um comportamento pró-oxidante quando compostos fenólicos ou terpenos excedem o intervalo ótimo de atuação. Assim, os dados obtidos para os azeites enriquecidos com OEs sugerem um platô de eficiência, o que já foi relatado por Herrero *et al*. (2010), indicando que doses mais elevadas do OE, não necessariamente ampliam o efeito protetor.

Os parâmetros de qualidade avaliados, índice de acidez, índice de peróxidos e TBARS, demonstraram que a estabilidade oxidativa do AOE enriquecido com OES está diretamente relacionada tanto ao tipo quanto à concentração do óleo essencial incorporado. O azeite adicionado de OEA apresentou o melhor desempenho antioxidante, evidenciado pela menor formação de produtos primários e secundários da oxidação lipídica. Em seguida, o OEO, especialmente em concentrações intermediárias, também contribuiu para a melhoria da estabilidade oxidativa do sistema.

Por outro lado, o OELS exibiu comportamento mais instável, com tendência pró-oxidante em determinadas condições, possivelmente associada à composição rica em

monoterpenos voláteis.

De modo geral, os resultados indicam que combinações específicas de OEs possuem potencial para aumentar a estabilidade do azeite, reforçando a ação antioxidante atribuída aos seus principais compostos bioativos.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os OEA, OELS e OEO analisados por CG-EM apresentaram composição química coerente com outros trabalhos encontrados na literatura e com os laudos apresentados pelo fornecedor, principalmente com relação aos constituintes majoritários.

Com relação à atividade microbiológica, a adição do OEO ao AOE promoveu inibição do crescimento de todas as bactérias testadas, tanto pelo método de difusão em disco quanto pelo método de microdiluição em caldo. Essas descobertas confirmam estudos anteriores que apontam o carvacrol, componente majoritário no OEO, como um forte agente antimicrobiano de amplo espectro. Como já indicado em alguns estudos, carvacrol e timol são compostos fenólicos cuja atividade está fortemente relacionada com a presença da hidroxila fenólica e do anel aromático presente nas suas estruturas, elementos essenciais para a atividade antimicrobiana destes compostos.

Por outro lado, quando os OEA e OELS foram adicionados ao AOE, não apresentaram atividade inibitória nas concentrações testadas em nenhum dos métodos utilizados contra as cepas pesquisadas. Dessa forma, o menor percentual de compostos fenólicos na composição do OE ou a menor interação com os alvos bacterianos avaliados podem estar relacionados com a não atividade encontrada.

A adição dos OEs ao AOE promoveu efeitos nas características físico-químicas quando os dados foram comparados ao AOE puro. Em relação ao índice de acidez, todos os azeites enriquecidos com os OEs apresentaram concentrações abaixo do limite legal de acidez para o AOE, indicando que nenhum OE comprometeu a classificação do produto. Os OEA e OEO promoveram as maiores reduções no índice de acidez.

Para o índice de peróxidos, o OEA apresentou o melhor desempenho antioxidante, com todas as concentrações testadas resultando em valores abaixo do AOE utilizado como controle.

Nos valores de TBARS, os OEA e OEO demonstraram maior eficácia no controle da oxidação secundária, sendo os resultados dependentes da concentração de OE utilizada. O OELS não apresentou um desempenho satisfatório, elevando o índice de peróxidos e mantendo os valores de TBARS iguais ou superiores ao controle, sem evidência de proteção oxidativa nas concentrações testadas.

O presente estudo contribui para o avanço no desenvolvimento de estratégias naturais voltadas à conservação e ao enriquecimento funcional de produtos alimentícios, demonstrando que a incorporação de OEs ao AOE representa uma alternativa promissora para

a obtenção de produtos com maior estabilidade oxidativa e potenciais benefícios à saúde.

Considerando os resultados obtidos, recomenda-se a realização de estudos complementares que avaliem o impacto sensorial dessas formulações, por meio de análises de sabor, odor e aparência, a fim de verificar a aceitabilidade do produto pelo consumidor. Além disso, é sugerido o monitoramento do tempo de estabilidade oxidativa e microbiológica durante o armazenamento, bem como a avaliação da influência das condições de processamento e conservação sobre a manutenção das propriedades bioativas. Essas abordagens poderão contribuir para consolidar a aplicação tecnológica dos azeites aromatizados como alimentos funcionais e ampliar seu potencial de uso na indústria alimentícia.

REFERÊNCIAS

ABDELMOHSEN, U. R.; ELMAIDOMY, A. H. Exploring the therapeutic potential of essential oils: a review of composition and influencing factors. **Frontiers in Natural Products**, [S. l.], v. 4, p. 1490511, abr. 2025. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/natural-products/articles/10.3389/fntpr.2025.1490511/full. Acesso em: 20 nov. 2025.

ABEBE, E.; GUGSA, G.; AHMED, M. Review on major food-borne zoonotic bacterial pathogens. **Journal of Tropical Medicine**, Dessie, v. 2020, n. 1, p. 1–19, jun. 2020. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1155/2020/4674235. Acesso em 26 jun. 2025.

ABOUBI, M. E.; ORCID, L.; DOUAE, B. H.; SAMIR, B.; ASMAE, B.; ANOUAR, E. M.; YOUSSEF, A.; EL-MAHJOUB, A. Chemical composition of essential oils of *Citrus limon* peel from three Moroccan regions and their antioxidant, anti-inflammatory, antidiabetic and dermatoprotective properties. **Journal of Herbmed Pharmacology**, Kenitra, v. 12, n. 1, p. 118–127, jan. 2023. Disponível em: https://herbmedpharmacol.com/Article/jhp-44616. Acesso em: 15 abr. 2025.

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. 4.1 ed**.** Illinois: Allured Publishing Corporation, 803 f. 2017**.** Disponível em: https://vdoc.pub/documents/identification-of-essential-oil-components-by-gas-chromatography-mass-spectrometry-1sa7rroj71d8?utm_source=chatgpt.com. Acesso em: 15 jun. 2024.

ALESSANDRO, V. A relação entre o azeite de oliva e a saúde ao longo da história da humanidade. **L'Olivo News**. Disponível em: https://olivonews.it/pt/il-binomio-olio-doliva-e-salute-nella-storia-delluomo/. Acesso em: 19 nov. 2025.

ALTUN, M.; YAPICI, B. M. Determination of chemical compositions and antibacterial effects of selected essential oils against human pathogenic strains. **Academia Brasileira de Ciências,** Canakkale, v. 94, n. 1, e20210074, 202. Disponível em: https://www.scielo.br/j/aabc/a/CW9DQZzfxch8fQfSf9vr5XP/. Acesso em: 13 jan. 2026.

ALVES, A. C. S. B. **Estudo da Influência do óleo essencial de alecrim nas propriedades de poli-(3-hidroxibutirato) /polietilenoglicol**. 2018. 64f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2018. Disponível em: https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/31889?locale=en. Acesso em: 29 nov. 2025.

ARAÚJO, M. M.; LONGO, P. L. In vitro antibacterial activity of *Origanum vulgare* (oregano) essential oil *against Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 83, n, 0, p. 1-7, abr. 2016. Disponível em: https://www.scielo.br/j/aib/a/PmHyDjgNVZgwbK7TgBHNtjF/?format=pdf&lang=pt. Acesso em: 11 dez. 2024.

ASENSIO, C. M.; NEPOTE, V.; GROSSO, N. Chemical stability of extra-virgin olive oil added with oregano essential oil. **International Journal of Food Science and Technology**, Argentina, v. 76, n. 7, p. 445-450, set. 2011. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22417562/. Acesso em: 08 out. 2024.

ASENSIO, C. M.; NEPOTE, V.; GROSSO, N. Consumers acceptance and quality stability of olive oil flavored with essential oils of different oregano species. **International Journal of Food Science and Technology**, Argentina, v. 48, n. 11, p. 2417-2428, 2013. Disponível em: https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/ijfs.12233. Acesso em: 08 out. 2024.

AVOLA, R.; GRANATA, G.; GERACI, C.; NAPOLI, E.; GRAZIANO, A. C. E.; CARDILE, V. Oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil provides anti-inflammatory activity and facilitates wound healing in a human keratinocytes cell model. **Food and Chemical Toxicology**, Catania, v. 144, p. 111586, jul. 2020. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32679285/. Acesso em: 10 ago. 2024.

BAGIŃSKA, S.; GOLONKO, A.; ŚWISŁOCKA, R.; LEWANDOWSKI, W. Monoterpenes as medicinal agents: exploring the pharmaceutical potential of *p*-cymene, *p*-cymenene, and *γ*-terpinene. **Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research**, Poland, v. 80, n. 6, p. 879–892, jan. 2023. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/377829719_Monoterpenes_as_Medicinal_Agents_Exploring_the_Pharmaceutical_Potential_of_p-Cymene_p-Cymenene_and_g-Terpinene. Acesso em: 15 nov. 2025.

BEN HSOUNA, A.; BEN HALIMA, N.; SMAOUI, S.; HAMDI, N. *Citrus lemon* essential oil: chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities with its preservative effect against *Listeria monocytogenes* inoculated in minced beef meat. **Lipids in Health and Disease**, Tunisia, v. 16, n. 146, p. 1-11, ago. 2017. Disponível em: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5543433/#:~:text=Methods,in%20minced%20beef%20meat%20model. Acesso em: 14 nov. 2025.

BIZZO, H. R.; REZENDE, C. M. O mercado de óleos essenciais no Brasil e no mundo na última década. **Revista Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 45, n. 8, p. 949-958, abr. 2022. Disponível em: https://www.scielo.br/j/qn/a/6kPQ6NvhMW65Z4JNrtgYGph/?format=pdf&lang=pt. Acesso em: 10 out. 2025.

BORA, H.; KAMLE, M.; MAHATO, DK.; TIWARI, P.; KUMAR, P. *Citrus* essential oils (CEOs) and their applications in food: an overview. **Plants**, [S.l.], v. 9, n. 3, p. 357, mar. 2020. Disponível em: https://www.mdpi.com/2223-7747/9/3/357. Acesso em: 10 abr. 2025.

BORGES, A. E. S. Importância química e biológica dos óleos voláteis de espécies do gênero *Eucalyptus*. **Scientia Naturalis**, Bambuí, v. 3, n. 1, p. 370–383, mar. 2021. Disponível em: https://periodicos.ufac.br/index.php/SciNat/article/view/4631. Acesso em: 07 abr. 2025.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 481, de 23 de setembro de 1999. Estabelece os parâmetros para controle microbiológico de produtos cosméticos e perfumes. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasilia, DF, 1999, p. 29, 27 set. 1999.

BRASIL. Resolução RDC nº 272, de 22 de setembro de 2005. Dispõe sobre o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de produtos de vegetais, produtos de frutas e cogumelos comestíveis. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasilia, DF, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde (ANVISA). Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos.** 1. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2010. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_vigilancia_doencas_alimentos.pdf. Acesso em: 05 jan. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução (MAPA). Instrução Normativa nº 1, de 30 de janeiro de 2012. Estebelece o regulamento técnico do azeite de oliva e do óleo de bagaço de oliva. **Diário Oficial da União:** seção 1, Brasília, DF, 01 fev. 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa nº 161, de 1 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União:** seção 1, Brasília, DF, 06 jul. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). **Surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar no Brasil**. Informe 2024. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2024. Acesso em 26 set. 2024.

BUEGE, J. A.; AUST, S. D. Microssomal lipid peroxidation. **Methods Enzymol**, v. 52, p. 302-310, 1978.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, n. 3, p. 223-253, ago. 2004. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15246235/. Acesso em: 15 abr. 2025.

BUSATTA, C.; MOSSI, A. J.; RODRIGUES, A. R. A.; CANSIAN, R. L.; OLIVEIRA, J. V. Evaluation of origanum vulgare essential oil as antimicrobial agent in sausage. **Brazilian Journal of Microbiology**, Erechim, v. 38, n. 4, p. 610–616, nov. 2007. Disponível em: https://www.scielo.br/j/bjm/a/4ydfrHj4y5hZFrDQnFCHq8n/?format=pdf&lang=en. Acesso em: 25 out. 2025.

CAYUELA, J. A.; GÓMEZ-COCA, R. B.; MOREDA, W.; PÉREZ-CAMINO, M. C. Sensory defects of virgin olive oil from a microbiological perspective. **Trends In Food Science & Technology**, Sevilha, v. 43, n. 2, p. 227-235, jun. 2015. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224415000497. Acesso em: 06 fev. 2025.

CESTONARO, T. M.; STEFENON, R.; BAINY, E. M. Análise de mercado para desenvolvimento de produtos alimentícios saudáveis e para fins especiais. **Brazilian Journal of Food Research,** Campo Mourão, v. 11 n. 1, p. 58-69, mar. 2020. Dispinível em: https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa. Acesso em: 05 jun. 2025.

CHEN, X.; DING, Y.; GUAN, H.; ZOU, C.; HE, X.; SHAO, Y.; WANG, Y.; WANG, N.; LI, B.; LV, G.; CHEN, S. The pharmacological effects and potential applications of limonene from citrus plants: a review. **Natural Product Communications**, China, v. 19, n. 5, maio 2024. Disponível em: https://journals.sagepub.com/doi/epub/10.1177/1934578X241254229. Acesso em: 08 jan. 2025.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria**. Approved standard M11–A7. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 7th ed., 2007.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved standard M7-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 9th ed., 2012.

COI, Conselho Oleícola Internacional. **Trade standard applying to olive oils and olive pomace oils**. COI/T.15/NC nº 3/Rev. 14, 2023.

CORRÊA, V. N. S.; PINA, L. T. S. Pharmacological activities of gamma-terpinene: a review. **Research, Society and Development**, Brasília, v. 14, n. 7, jul. 2025. Disponível em: https://rsdjournal.org/rsd/article/view/49261. Acesso em: 10 jan. 2026.

COSTA, B. M. B.; SILVA, R. S.; MELO JÚNIOR, P. M. R. de; TRAVASSOS, R. M. C.; MAIA, S. M. A. S.; SILVA, L. B.; OLIVEIRA, N. G. de; ISALTINO, M. da C.; MELO FILHO, D. C. de; GURGEL, M. C. S. P.; TERÊNCIO, M. C. de O.; CORREIA, M. F. de A. S.; SANTANA, M. L. F. de; SILVA, I. C. da; SILVA, I. M. Antimicrobial activity of rosemary essential oil associated with calcium hydroxide. **Research, Society and Development**, Pernambuco, v. 10, n. 16, dez. 2021. Disponível em: https://rsdjournal.org/rsd/article/view/23865. Acesso em: 15 mar. 2025.

CRUZ, A. C. S.; CUNHA, I. S. B; SILVA, L. M. S. X.; GONZALES, A. R. A.; SANTOS, L. F. P.; LEAL, I. L.; DA CONCEIÇÃO, E. J. L.; BEZERRA, P. Q. M.; DE MATOS, M. F. R. Olive oils flavored by essential oils: a comparison between physicochemical and sensorial analyses to attend different consumer profiles. **Agrarian and Biological Sciences**, Bahia, v. 11, n. 5, p. e6411527912–e6411527912, mar. 2022. Disponível em: https://rsdjournal.org/rsd/article/view/27912/24330. Acesso em: 10 jan. 2024.

CUTRIM, E. S. M.; TELES, A. M.; MOUCHREK, A. N.; MOUCHERK FILHO, V. E.; EVERTON, G. O. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *zingiber officinale* (gengibre) e *rosmarinus officinalis* (alecrim). **Revista Virtual Química**, Maranhão, v. 11, n. 1, p. 60-81, mar. 2019. Disponível em: https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/2605. Acesso em: 15 dez. 2024.

CODEX ALIMENTARIUS. **Codex standard for extra virgin olive oil**. Roma: FAO/WHO, 2003.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual Química**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 3, p. 241-256, jul. 2009. Disponível em: https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/51. Acesso em: 12 out. 2025.

DANTIGNY, P.; NANGUY, S. P. M. Significance of the physiological state of fungal spores. **International Journal of Food Microbiology**, Dijon, v. 134, n. 1-2, p. 16-20, ago. 2009. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19250693/. Acesso em: 10 mar. 2024.

DEHKORDI, K, M.; SHAMSABADI, G. M.; BANIMEHDI, P. The occurrence of *Staphylococcus aureus*, enterotoxigenic and methicillin-resistant strains in Iranian food resources: a systematic review and meta-analysis. **Annali di Igiene**, Irã, v. 31, n. 3, p. 263–278, jun. 2019. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31069371/. Acesso em: 15 maio 2025.

DINIZ, A. F; SANTOS, B.; NOBREGA, L. L. L. O.; SANTOS, V. R. L.; MARIZ, W. S.; CRUZ, P. S. C.; NOBREGA, R. O.; SILVA, R. L.; PAULA, A. F. R.; SANTOS, J. R. D. A.; PESSOA, H. L. F.; OLIVEIRA-FILHO, A. A. Antibacterial activity of Thymus vulgaris (thyme) essential oil against strains of *Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus saprophyticus* isolated from meat product. **Brazilian Journal of Biology,** Paraíba, v. 83, p. e275306, ago. 2023. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37585936/. Acesso em: 07 abr. 2025.

DINIZ, A. F; SANTOS, B.; NOBREGA, L. L. L. O.; SANTOS, V. R. L.; MARIZ, W. S.; CRUZ, P. S. C.; NOBREGA, R. O.; SILVA, R. L.; PAULA, A. F. R.; SANTOS, J. R. D. A.; PESSOA, H. L. F.; OLIVEIRA-FILHO, A. Evaluation of the antibacterial, modulatory and anti-adherent properties of oregano (*Origanum vulgare*) essential oil against food pathogenic bacteria. **Brazilian Journal of Biology**, Paraíba, v. 45, p. 7-22, set. 2024.Disponível em: https://www.scielo.br/j/bjb/a/HfZWxhXmFvTFdy38H8Sg3VH/?format=html&lang=en. Acesso em: 07 abr. 2025.

DURMUŞ, M.; ÖZOGUL, Y.; OZYURT, G. B.; UCAR, Y. Effects of citrus essential oils on the oxidative stability of microencapsulated fish oil by spray-drying. **Frontiers in Nutrition**, Turquia, v. 9, p. 978130, jan. 2023. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/nutrition/articles/10.3389/fnut.2022.978130/full. Acesso em: 18 maio 2025.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Mandioca e fruticultura. Citros**: limão. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2017. Disponível em: https://www.embrapa.br/mandioca-e-fruticultura/cultivos/citros. Acesso em: 27 out. 2025.

EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS. **Serra da Mantiqueira prepara-se para a safra das oliveiras**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2023. Disponível em: https://www.azeitech.com.br/2023/12/28/serra-da-mantiqueira-prepara-se-para-a-safra-das-oliveiras/. Acesso em: 17 jan. 2024.

EVERTON, G. O.; MAFRA, N. S. C.; GOMES, F. C. S.; GOMES, P. R. B.; MARINHO, S. C, SILVA, D. A. L.; BANDEIRA, M. G. A.; MARTINS, R. F. F.; LIMA, M. M. O.; FILHO, V. E. M. In vitro antidiabetic activity of essential oil extracted from *Citrus limon* (L.). **Científica Digital Editora**, Maranhão, 1 ed., p. 361–374, nov. 2025. Disponível em: https://www.editoracientifica.com.br/books/chapter/250920040. Acesso em: 14 nov. 2025.

FARHOOSH, R.; JOHNNY, S.; ASNAASHARI, M. MOLAAHMADIBAHRASEMAN, N.; SHARIF, A. Structure-antioxidant activity relationships of o-hydroxyl, o-methoxy, and alkyl ester derivatives of p-hydroxybenzoic acid. **Food Chemistry**, Mashhad, v. 194, p. 128-134, mar. 2016. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26471535/. Acesso em: 10 abr. 2025.

FERREIRA, E. I. Planejamento de fármacos na área de doença de chagas: avanços e desafios. **Revista Virtual de Química**, São Paulo, v. 4, n. 3, p. 226-246, jun. 2012. Disponível em: http://www.uff.br/rvq. Acesso em: 20 dez. 2024.

FLYNN, M. M; TIERNEY, A.; ITSIOPOULOS, C. Is extra virgin olive oil the critical ingredient driving the health benefits of a mediterranean diet? A narrative review. **Nutrients**, [S.l.], v. 15, n. 13, p. 1-26, jun. 2023. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37447242/. Acesso em: 14 mar. 2025.

GALLO. **Azeite Virgem Extra Clássico Gallo**. Gallo Portugal. Disponível em: https://www.galloportugal.com/. Acesso em: 13 jan. 2026.

GORZYNIK-DEBICKA, M.; PRZYCHODZEN, P.; CAPPELLO, F.; KUBAN-JANKOWSKA, A.; GAMMAZZA, A. M.; KNAP, N.; WOZNIAK, M. L.; GORSKA-PONIKOWSKA, M. Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.l.], v. 19, n. 3, p. 686, fev. 2018. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29495598/. Acesso em: 14 dez. 2023.

GUIMARÃES, A. C.; MEIRELES, L. M.; LEMOS, M. F.; GUIMARÃES, M. C. C.; ENDRINGER, D. C.; FRONZA, M.; SCHERER, R. ntibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. **Molecules**, Basel, v. 24, n. 13, p. 2471, jul. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.3390/molecules24132471. Acesso em: 13 ago. 2025.

HANIF, M. A.; NISAR, S.; KHAN, G. S.; MUSHTAQ, Z.; ZUBAIR, M. Essential Oils. In: Malik, S. (eds) **Essential Oil Research**. Faisalabad, p. 3-17, jun. 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/333775949_Essential_Oils. Acesso em: 08 ago. 2024.

HAO, Y.; LI, J.; SHI, L. A carvacrol-rich essential oil extracted from oregano (*origanum vulgare*) “hot & spicy” exerts potent antibacterial effects against *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 12, p. 1-12, nov. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.741861. Acesso em: 11 abr. 2025.

FERNANDES, B. S.; SOUZA, T. M. M.; ORSSATTO, C, S. **Doenças causadas por *Salmonella* spp.: Formas de apresentação clínica e epidemiologia**. In: VIII Fórum Rondoniense de Pesquisa, v.8, n.1, 2022, Ji-Paraná, UniSL, 2022. Disponível em: https://share.google/yz7qVx4IXr2K8sNNw. Acesso em: 25 maio 2024.

HELAL, I. M.; EL-BESSOUMY, A.; AL-BATAINEH, E.; JOSEPH, M. R. P.; RAJAGOPALAN, P.; CHANDRAMOORTHY, H. C.; AHMED, S. B. H. Antimicrobial efficiency of essential oils from traditional medicinal plants of asir region, Saudi Arabia, over drug resistant isolates. **BioMed Research International**, v. 2019, p. 1–9, maio 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1155/2019/8928306. Acesso em: 13 jan. 2025.

HERRERO, M.; PLAZA, M.; CIFUENTES, A.; IBÁÑEZ, E. Green processes for the extraction of bioactives from rosemary: chemical and functional characterization via ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and in-vitro assays. **Journal of chromatography A**, Madrid, v. 1217, n. 16, p. 2512-2520, abr. 2010. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021967309016938?via%3Dihub. Acesso em: 08 abr. 2024.

HIMEDA, L.; MERNIZ, S. B.; MONTEAGUDO-OLIVANC, R.; BARKAT, A. M.; CORONAS, J. C. Antioxidant activity of the essential oil of citrus limon before and after its encapsulation in amorphous SiO_2. **Scientific African**, Algeria, v. 6, p. e00181, nov. 2019. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2468227619307422?via%3Dihub. Acesso em: 15 dez. 2024.

HUANG, K.; LIU, R.; ZHANG, Y.; GUAN, X. Characteristics of two cedarwood essential oil emulsions and their antioxidant and antibacterial activities. **Food Chemistry**, Shanghai, v. 346, p. 128970, jun. 2021. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814620328545?via%3Dihub. Acesso em: 01 set. 2025.

IHAMDANE, R.; TISKAR, M.; OUTEMSAA, B.; ZELMAT, L.; DAGDAG, O.; BERISHA, A.; BERDIMURODOV, E.; EBENSO, E. E.; CHAOUCH, A. Essential oil of origanum vulgare as a green corrosion inhibitor for carbon steel in acidic medium. **International Journal of Engineering Science**, Kenitra,, v. 48, p. 7685–7701, mar. 2023. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s13369-023-07693-0. Acesso em: 10 abr. 2024.

ILKTAC, M.; AK-SAKALLI, E.; ATLI, B.; OZTINEN, N.; OZBIL, E.; DEMIRCI, F.; KOSAR, M. In vitro synergistic antibacterial activities of carvacrol, thymol and selected carvacrol-rich and carvacrol-deficient essential oil combinations. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, Turkey, v. 28, n. 2, p. 281–296, mar. 2025. Disponível em: https://colab.ws/articles/10.1080%2F0972060x.2025.2486427. Acesso em: 10 dez. 2025.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ**. Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Disponível em: https://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf. Acesso em: 03 jun. 2025.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION**.** ISO 9235:2013: **natural aromatic raw materials - vocabulary**. Geneva: ISO, 14 f., 2013.

JANAKAT, S.; AL-NABULSI, A. A. R.; ALLEHDAN, S.; OLAIMAT, A. M.; HOLLEY, R. A. Antimicrobial activity of amurca (olive oil lees) extract against selected foodborne pathogens. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 35, n. 2, p. 259-265, jun. 2015. Disponível em: https://www.scielo.br/j/cta/a/NVGNWhZLGNmqCZXFcnr7kkR/?lang=en. Acesso em: 08 ago. 2024.

JIANG, Y.; WU, N.; FU, Y.; WANG, W.; LUO, M.; ZHAO, C.; ZU, Y.; LIU, X.; Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of rosemary. **Environmental toxicology and pharmacology**, Harbin, v. 32, p. 63-68, jul. 2011. Disponível em: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21787731/. Acesso em: 20 nov. 2024.

JNAID, Y.; YACOUB, R.; AL-BISKI, F. Antioxidant and antimicrobial activities of *Origanum vulgare* essential oil. **International Food Research Journal**, Damascus, v. 23, n. 4, p. 1706-1710, jan. 2016. Disponível em: https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20163247250. Acesso em: 10 out. 2024.

JUHAIMI, F. Y.; USLU, N.; ÖZCAN, M. M.; GHAFOOR, K.; BABIKER, E. E. The effect of rosemary essential oil on physico-chemical properties of extra-virgin olive oil stored in colourful bottles. **Quality Assurance and Safety of Crops & Foods**, Turkey, v. 8, n. 3, p. 439-447, jun. 2016. Disponível em: https://qascf.com/index.php/qas/article/view/236. Acesso em: 02 nov. 2024.

KAČÁNIOVÁ, M.; VUKIĆ, M.; VUKOVIĆ, N. L.; ČMIKOVÁ.; VEREŠOVÁ, A.; SCHWARZOVÁ, M.; BABOŠOVÁ, M.; PORHAJAŠOVÁ, J. I.; KLUZ, M.; WASZKIEWICZ-ROBAK, B. An in-depth study on the chemical composition and biological effects of pelargonium graveolens essential oil. **Foods**, Slovakia, v. 13, n. 33, p. 1-19, dez. 2024. Disponível em: https://www.mdpi.com/2304-8158/13/1/33. Acesso em: 10 ago. 2025.

KEMPINSKI, E. M. B. C.; VITAL, A. C. P.; PINTO, L. A. M.; CARDOSO, M. A. P.; GUERRERO, A. K.; RAMOS, T. R.; VALERO, M. V.; PRADO, I. N. Consumer acceptability of infant food with oregano essencial oil by children diagnosed with cerebral palsy. **Food Science and Technology**, Maringá, v. 43, p. 1-7, nov. 2023. Disponível em: https://www.scielo.br/j/cta/a/bD4Fwm9WhVfsBjkSn8L4mRK/?format=pdf&lang=en. Acesso em: 15 nov. 2025.

KLIMEK-SZCZYKUTOWICZ, M.; SZOPA, A.; EKIERT, H. *Citrus limon* phenomenon - a review of the chemistry, pharmacological properties, applications in the modern pharmaceutical, food, and cosmetics industries, and biotechnological studies. **Plants**, Medyczna, v. 9, n. 1, p. 1-24, jan. 2020. Disponível em: https://www.mdpi.com/2223-7747/9/1/119. Acesso em: 02 nov. 2024.

KHAN, H. Characterization of 1, 8-Cineole (Eucalyptol) from myrtle and its potential antibacterial and antioxidant activities. **Karbala International Journal of Modern Science**, Iraq, v. 11, n. 1, fev. 2025. Disponível em: https://doi.org/10.33640/2405-609X.3394. Acesso em: 10 dez. 2025.

KOZICS, K.; BUČKOVÁ, M.; PUŠKÁROVÁ, A.; KALÁSZOVÁ, V.; CABICAROVÁ, T.; PANGALLO, D. The effect of ten essential oils on several cutaneous drug-resistant microorganisms and their cyto/genotoxic and antioxidant properties. **Molecules**, Bratislava, v. 24, n. 24, p. 1-15, dez. 2019. Disponível em: https://www.mdpi.com/1420-3049/24/24/4570. Acesso em: 12 out. 2025

LAINCER, F.; TAMENDJARI, A.; LARIBI, R.; ARRAR, L.; ROVELLINI, P.; VENTURINI, S. Olive oils from algeria: phenolic compounds, antioxidant and antibacterial activities. **Grasas y Aceites**, Bejaia, v. 65, n. 1, p. 1-10, mar. 2014. Disponível em: https://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/1466. Acesso em: 10 out. 2024.

LANZA, B.; NINFALI, P. Antioxidants in extra virgin olive oil and table olives: connections between agriculture and processing for health choices. **Antioxidants**, Italy, v. 9, n. 41, p. 2-17, jan. 2020. Disponível em: https://www.mdpi.com/2076-3921/9/1/4. Acesso em: 12 out. 2024.

LEÃO, L. L.; OLIVEIRA, F. S.; SOUZA, R. S.; FARIAS, P. K. S.; FONSECA, F. S. A.; MARTINS, E. R.; SOUZA, R. M. Uso de antioxidantes naturais em carnes e seus subprodutos. **Caderno de Ciências Agrárias**, Montes Claros, v. 9, n. 1, p. 94-100, abr. 2017.

Disponível em: https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/2951. Acesso em: 15 mar. 2024.

LEITE, D. O. D.; COSTA, L. R.; LOPES, C. M. U.; RODRIGUES, A. Y. F.; COSTA, J. G. M. Physical properties of essential oils: an experimental tool in Chemistry teaching. **Research, Society and Development**, Ceará, v. 9, n. 10, p. e5529108889, dez. 2020. Disponível em: https://rsdjournal.org/rsd/article/view/8889/7921. Acesso em: 22 mar. 2024.

MACHADO, W. R. C.; FILIPPIN, A. P.; DA SILVA, L. M.; SILVA, H. D. M.; HOFFMANN, R. M. M. Incorporation of phenolic compounds in food products: a review. **Brazilian Journal of Development**, São José do Rio Preto, v.7, n. 5, p. 46470-46499, jun. 2021. Disponível em: https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/29522/23284. Acesso em: 12 nov. 2024.

MĄCZKA, W.; TWARDAWSKA, M.; GRABARCZYK, M.; WIŃSKA, K. Carvacrol-a natural phenolic compound with antimicrobial properties. **Antibiotics Basel**, Wrocław, v. 12, n. 5, p. 1-22, abr. 2023. Disponível em: https://www.mdpi.com/2079-6382/12/5/824. Acesso em: 12 nov. 2024.

MARCHESE, A.; BARBIERI, R.; COPPO, E.; ORHAN, I. E.; DAGLIA, M.; NABAVI, S. F.; AJAMI, M.; Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: a mechanistic viewpoint. **Critical Reviews in Microbiology**, Genoa, v. 43, n. 6, p. 668–689, mar. 2017. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/1040841X.2017.1295225. Acesso em: 02 dez. 2024.

MATHEYAMBATH, A. C.; PADMANABHAN, P.; PALIYATH, G. Citrus Fruits. **Encyclopedia of Food and Health**, Guelph, p. 136–140, dez. 2016. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/chapter/referencework/abs/pii/B9780123849472001653?via%3Dihub. Acesso em: 12 nov. 2024.

MELO, E. S.; AMORIM, W. R.; PINHEIRO, R. E. E. CORREA, P. G. do N.; CARVALHO, S. M. R.; SANTOS, A. R. S. S.; BARROS, D. S.; OLIVEIRA, E. T. A. C.; MENDES, C. A.; SOUSA, F. V. Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil. **Pubvet**, Piauí, v. 12, n. 10, p. 1-9, out. 2018. Disponível em: https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/1010. Acesso em: 02 dez. 2024.

MELO, A. F. M. DE; SOUSA, L. DE F. L. DE; NASCIMENTO JÚNIOR, W. DO; NASCIMENTO, W. L. DO; TENÓRIO, R. DA C.; RODRIGUES, R. R. DA S.; RODRIGUES, A.V. S.; SANTANA, M. L. B.; SANTOS, F. F.; PEREIRA FILHO, J. L.; MONTEIRO, P. DE M.; LIMA, A. M. L.; SILVA, N. F. C.; BARRETO, J. M. M.; SOUSA, A. C. M.; SANTANA, L. S. O. S. Alecrim (*rosmarinus officinalis*) atividade anti-inflamatória: uma revisão de literatura. **Revista de Casos e Consultoria**, Piauí, v. 12, n. 1, p. e24346, jun. 2021. Disponível em: https://periodicos.ufrn.br/casoseconsultoria/article/view/24346. Acesso em: 02 mar. 2025.

MORSHEDLOO, M. R.; SALAMI, S. A.; NAZERI, V.; MAGGI, F.; CRAKER, L. Essential oil profile of oregano (*Origanum vulgare* L.) populations grown under similar soil and climate conditions. **Industrial Crops and Products**, Maragheh, v. 119, p. 183–190, set.

2018. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926669018302723?via%3Dihub. Acesso em: 10 out. 2024.

MUSA, W. Antibacterial activity of phenolic compounds in olive oil extracts on periodontopathogenic oral bacteria. **Archives of Orofacial Sciences**, Malaysia, v. 17, n. 1, p. 21-33, ago. 2022. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/362452031_Antibacterial_Activity_of_Phenolic_Compounds_in_Olive_Oil_Extracts_on_Periodontopathogenic_Oral_Bacteria. Acesso em: 15 nov. 2025.

NABI, H. B.; MONIR, A.; MIA, S.; ISLAM, S.; ZZAMAN, W. Essential oils: advances in extraction techniques, chemical composition, bioactivities, and emerging applications. **Food Chemistry Advances**, Bangladesh, v. 8, p. 101048, jul. 2025. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772753X25001637. Acesso em: 28 dez. 2025.

NASREDDINE, E. O.; ABDELAALI, B.; SAAD, B.; TAOUFIQ, B.; RIAZ, U.; AMAL, A.; HANAE, N. E. M.; BEY, H. G. S. K.O.; LONG, C. M.; ABDELHAKIM, B. Fenchone and camphor: main natural compounds from *Lavandula stoechas* L., expediting multiple in vitro biological activities. **Heliyon**, Rabat, v. 9, n. 11, p. e21222, out. 2023. Disponível em: https://www.cell.com/heliyon/pdf/S2405-8440(23)08430-X.pdf?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2405844023084302308430X%3Fshowall%3Dtrue. Acesso em: 18 maio 2025.

NATONE blog. **Limão Siciliano: benefícios, curiosidades e novo sabor da natural one**. Jul, 2023. Disponível em: https://blog.natone.com.br/limao-siciliano-o-novo-sabor-da-natural-one/. Acesso em: 08 fev. 2024.

NAZZARO, F.; FRATIANNI, F.; DE MARTINO, L.; COPPOLA, R.; DE FEO, V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, Avellino, v. 6, n. 12, p. 1451-1474, nov. 2013. Disponível em: https://www.mdpi.com/1424-8247/6/12/1451. Acesso em: 10 jul. 2025.

NIST. NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 2.3). **Gaithersburg: National Institute of Standards and Technology**, 2017.

OLIVEIRA, A. F. de; ANTUNES, L. E. C.; SCHUCH, M. W. Caracterização morfológica de cultivares de oliveira em coleção e considerações sobre o seu cultivo no Brasil. **Informe Agropecuário Epamig**, Belo Horizonte, v. 27, n. 231, p. 55-62, jun. 2006. Disponível em: https://biblioteca.epagri.sc.gov.br/consulta/marc?id=46384. Acesso em: 14 jun. 2025.

OLMEDO, R.; RIBOTTA, P.; GROSSO, N. R. Decrease of chemical and volatile oxidation indicators using oregano essential oil combined with BHT in sunflower oil under accelerated storage conditions. **Journal Food Science Technology**, Córdoba, v. 56, n. 5, p. 2522-2535, abr. 2019. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-019-03731-8. Acesso em: 10 mar. 2025.

ÖZCAN, M. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts on natural olive and sesame oils. **Grasas y Aceites**, Turkey, v. 50, n. 5, p. 355–358, out. 1999.

Disponível em: https://grasasyaceites.revistas.csic.es/index.php/grasasyaceites/article/view/679. Acesso em: 15 ago. 2024.

PALAZZOLO, E.; LAUDICINA, V. A.; GERMANÀ, M. A. Current and Potential Use of Citrus Essential Oils. Current Organic Chemistry. **Bentham Science Publishers**, Palermo, v. 17, n. 24, p. 3042-3049, .2013. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/260598935_Current_and_Potential_Use_of_Citrus_Essential_Oils#full-text. Acesso em: 10 abr. 2024.

PANT, A. Oregano, (*origanum vulgare*) native to the hills of the Mediterranean countries and western Asia. **Encyclopaedia Britannica**. Atualizado em: 08 set. 2025. Disponível em: https://www.britannica.com/plant/oregano. Acesso em: 27 out. 2025.

PAPIRO DE EBERS. **Ebers Papyrus**. c. 1550 a.C. Manuscrito médico egípcio. Biblioteca da Universidade de Leipzig. Disponível em: https://www.britishmuseum.org/collection/object/Y_EA10059. Acesso em: 14 jan. 2025.

PAW, M.; BEGUM, T.; GOGOI, R.; PANDEY, S. K. Chemical composition of citrus limon l. burmf peel essential oil from North east India. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, Jorhat, v. 23, n. 2, p. 337-344, abr. 2020. Disponível em: https://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.1080/0972060X.2020.1757514?scroll=top&needAccess=true. Acesso em: Acesso em: 20 nov. 2024.

R CORE TEAM**. *R:* a language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2024. Disponível em: https://www.r-project.org/. Acesso em: 10 ago. 2024.

RABEH, K.; HNINI, M.; OUBOHSSAINE, M. A comprehensive review of transcription factor-mediated regulation of secondary metabolites in plants under environmental stress. **Stress Biology**, Morocco, v. 5, n. 15, p. 1-21, fev. 2025. Disponível em: https://link.springer.com/article/10.1007/s44154-024-00201-w#citeas. Acesso em: 25 maio 2025.

RAME, A. L.; OSELAME, K.; PEIXE, R.; SAIBRO, V. A. E. **Produção de óleo essencial:** reaproveitamento de cascas de frutas cítricas seus benefícios e aplicações em alimentos. 2020. 24 p. Trabalho de Conclusão do Curso de Técnico em Alimentos - Instituto Federal de Santa Catarina, Xanxerê, 2020. Disponível em: https://pt.scribd.com/document/868986232/reaproveitamento-de-cascas-de-frutas-citricas. Acesso em: 10 mar. 2024.

RATHORE, S.; MUKHIA, S.; KAPOOR, S.; BHATT, V.; KUMAR, R.; KUMAR, R. Seasonal variability in essential oil composition and biological activity of *Rosmarinus officinalis* L. accessions in the western Himalaya. **Scientific Reports**, India, v. 12, p. 1-13, fev. 2022. Disponível em: https://www.nature.com/articles/s41598-022-07298-x. Acesso em: 23 out. 2025.

SAINT. **Tips for growing oregano: enhance your culinary garden**. Disponível em: https://br.pinterest.com/pin/357895501659874361/. Acesso em: 14 jan. 2025.

SALEHI, B.; UPADHYAY, S.; ORHAN, I. E.; JUGRAN, A. K.; JAYAWEERA, S. L. D.; A DIAS, D.; SHAROPOV, F.; TAHERI, Y.; MARTINS, N.; BAGHALPOUR, N.; Cho, W. C.; SHARIFI-RAD, J. Therapeutic potential of α- and *β*-pinene: A miracle gift of nature. **Biomolecules**, [S.l.], v. 11, n. 9, p. 1-34, nov. 2019. Disponível em: https://www.mdpi.com/2218-273X/9/11/738. Acesso em: 12 nov. 2025.

SANTOS, K. P. O.; FARIA, A. C. S. R.; SILVA, D. P. A.; LISBOA, P. F.; COSTA, A. P.; KNACKFUSS, F. B. *Salmonella* spp. como agente causal em doenças transmitidas por alimentos e sua importância na saúde pública: revisão. **Pubvet**, Grande Rio, v. 14, n. 10, p. 1-9, out.2020. Disponível em: https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/351. Acesso em: 11 ago. 2024.

SANTOS, D. G.; BELTRÃO FILHO, E. M.; DA CRUZ, G. R. B.; DE LIMA, A. M.; QUIRINO, M. R.; DE SOUSA, S.; RIBEIRO, N. L. Sensory profile of fermented milk drink with yellow mombin (*Spondiasmobin* L.) and the addition of *Crotonblanchetianus Baill* essential oil. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 42, p. e40221, set. 2022. Disponível em: https://www.scielo.br/j/cta/a/vDsyJwYhqwGdM9jpqLdKF9r/?format=pdf&lang=en. Acesso em: 20 set. 2025.

SILVA, R. M. M; **Avaliação da atividade antimicrobiana de condimentos portugueses e óleos essenciais de plantas aromáticas frente a bactérias patogênicas e/ou deteriorantes de alimentos.** 2014. 124 f. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar) - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real: [S.n.], 2014, Disponível em: https://catalogo.biblioteca.utad.pt/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=67970&q=au%3APoeta%20Alexandre%20Manuel%20da%20Silva%20Dinis. Acesso em: 11 maio 2025.

SILVA, M. G. S. DA. **Atividade antimicrobiana, antioxidante e teor de compostos fenólicos totais de diferentes partes do *limão siciliano* (L).** 2017. 17 f. Monografia (Graduação Química Industrial) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2017. Disponível em: http://hdl.handle.net/123456789/1501. Acesso em: 11 jun. 2024.

SILVA, E. **Plantio de oliveiras se consolida no sul do Brasil**. Disponível em: https://globorural.globo.com/Noticias/Agricultura/noticia/2022/04/plantio-de-oliveiras-se-consolida-no-sul-do-brasil.html. Acesso em: 19 nov. 2025.

SILVEIRA, J. C.; BUSATO, N. V.; COSTA, A. O. S. DA; COSTA JUNIOR, E. F. DA. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, Alegre, v. 8, n. 15, p. 2038-2052, nov. 2012. Disponível em: https://www.conhecer.org.br/enciclop/2012b/ciencias%20exatas%20e%20da%20terra/levantamento%20e%20analise.pdf. Acesso em: 08 maio 2023.

SOLIMAN, M. M.; ELSABA, Y. M.; SOLIMAN, M. S. A; AHMED, E. Z. Composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. and *Artemisia monosperma* L. leaf essential oils and methanolic extracts from plants grown in normal and saline habitats in Egypt. **Scientific Reports**, Cairo, v. 14, n. 1, p. 7342, mar. 2024. Disponível em: https://www.nature.com/articles/s41598-024-57301-w. Acesso em: 11 set. 2025.

SOUSA, A. T. L. DE ANDREZA, R. S.; ALVES, E. F.; CRUZ, A. J. F.; LEANDRO, L. M. G.; GUEDES, T. T. A. M.; MACEDO, R. O.; LIMA, L, F.; OLIVEIRA, C. D. M.; COUTINHO, H. D. M.; TINTINO, S. R.; SOUSA, P. V. S.; AQUINO, P. E. A. Evaluación de la actividad antibacterial de extractos metanol y hexano, el tallo rodadura *Melissa Officinalis*. **Revista Ciencia de la Salud** [online], v. 14, n. 2, p. 201-210, maio 2016. Disponível em: https://doi.org/10.12804/revsalud14.02.2016.05. Acesso em: 14 nov. 2024.

SOUSA, D. A. de. **Avaliação da atividade larvicida de óleos essenciais de espécies de *citrus* frente às larvas de 41 *aedes aegypti***. 2019. 60 p. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) - Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2019. Disponível em: https://tedebc.ufma.br/jspui/handle/tede/2997. Acesso em: 15 dez. 2024.

TEIXEIRA, J. P. F.; MARQUES, M. O. M.; FIGUEIREDO, J. O. Composição química de óleos essenciais de quinze genótipos de limão em duas épocas de colheita. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 34, n. 2, p. 65-74, out. 2013. Disponível em: https://www.citrusrt.ccsm.br/article/10.5935/2236-3122.20130008/pdf/citrusrt-34-2-65.pdf. Acesso em: 28 dez. 2025.

TEJADA-MUÑOZ, S.; CORTEZ, D.; RASCÓN, J.; CHAVEZ, S.G.; CAETANO, A.C.; DÍAZ-MANCHAY, R.J.; SANDOVAL-BANCES, J.; HUYHUA-GUTIERREZ, S.; GONZALES, L.; CHENET, S.M. Antimicrobial activity of origanum vulgare essential oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Pharmaceuticals**, Chachapoyas, v. 17, n. 11, p. 1430–1430, out. 2024. Disponível em: https://www.mdpi.com/1424-8247/17/11/1430. Acesso em: 12 ago. 2025.

THE OBSERVATORY OF ECONOMIC COMPLEXITY**.** Trade profile of essential oils – Brazil. **OEC World**. Disponível em: https://oec.world/en/profile/bilateral-product/essential-oils/reporter/bra. Acesso em: 01 nov. 2025.

TISSERAND, R.; YOUNG, R. Essential oil safety: a guide for health care professionals. 2. ed. [S.n.]: **Elsevier**, 2013. 800 p. ISBN: 9780702054341. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780443062414000023?via%3Dihub. Acesso em: 08 set. 2023.

TRAJANO, V. N.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L. S.; TRAVASSOS, A. E. R. Property of spice essential oils on food contaminating bacteria. **Food Science and Technology,** Paraína, v. 29, n. 3, p. 542–545, set. 2009. Disponível em: https://www.scielo.br/j/cta/a/yDVtMkfNKXztV88CShmpQDJ/?lang=pt. Acesso em: 25 mar. 2025.

UNIÃO EUROPEIA. Regulamento (UE) 2022/2104 da Comissão, de 29 de julho de 2022. Relativo às normas de comercialização do azeite de oliva e à sua classificação. **Jornal Oficial da União Europeia**, L 283, p. 17–30, 4 out. 2022. Disponível em: http://data.europa.eu/eli/reg_del/2022/2104/oj. Acesso em: 14 dez. 2023.

UNIÃO EUROPEIA**.** Regulamento (UE) 2022/2105 da Comissão, de 29 de julho de 2022. Estabelece métodos de análise e regras de verificação das características do azeite de oliva. **Jornal Oficial da União Europeia**, L 283, p. 31–61, 4 out. 2022. Disponível em: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2022/2105/oj. Acesso em: 14 dez. 2023.

VANDENDOOL, H.; KRATZ, P. D. A genealization of the retention index system inchanding linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of chromatography**, New Jersey, v. 11, p. 463-471, 1963. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S002196730180947X?via%3Dihub. Acesso em: 15 jul. 2025.

VASCONCELOS, F. F.; MOURA, H. J. de. Elaboração de uma metodologia baseada em estatística para encaminhamento dos casos da COVID-19. **Revista de Administração Pública**, São Paulo, v. 54, n. 5, p. 1417-1428, set-out. 2020. Disponível em: https://www.scielo.br/j/rap/a/whc5pSDKfxT9N3rgC9Mwnqf/?format=html&lang=pt. Acesso em: 10 out. 2023

VIANA, M. D. M.; NETO, G. J. S.; LIMA, A. A.; LEITE, A. B.; SOUZA, I. T; SOUZA, I, T; SANTANA, A. B. L.; CAMPESATTO, E. A.; MOREIRA, M. S. A. *Citrus limon* (L.) Burm f. essential oil has anxiolytic and sedative properties by modulating GABAA receptors. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Salvador, v. 63, p. e20200206, abr. 2020. Disponível em: https://www.scielo.br/j/babt/a/nRk58V8pvShh34bv5VRrqPt/?format=html&lang=en. Acesso em: 19 nov. 2025.

WANG, W.; BALOCH, Z.; JIANG, T.; ZHANG C.; PENG, Z.; LI, F.; FANNING, S.; MA, A.; XU, J. Enterotoxigenicity and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from retail food in China. **Frontiers in Microbiology**,[S.l.], v. 8, p. 1-11, nov. 2017. Disponível em: https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2017.02256/full. Acesso em: 18 mar. 2024.

WILSON, M. **Óleos essenciais para a cozinha e o bem-estar**. 1. ed. São Paulo: Laszlo, 2018. 190 p. ISBN 978-85-5754-036-1.

YASIR, M.; NAWAZ, A.; GHAZANFAR, S.; OKLAD, M. K.; CHAUDHARY, A.; ALF, W. H.; AJMAL, M. N.; ABDELGAWAD, H.; AHMADI, Z.; ABBASI, F.; WADOOD, A.; MANZOOR, Z.; AKHTAR, N.; DIN, M.; HAMEED, Y.; IMRAN, M. Anti-bacterial activity of essential oils against multidrug-resistant foodborne pathogens isolated from raw milk. **Brazilian Journal of Biology**, [S.l.], v. 84, p. e259449, 2024. Disponível em: https://www.scielo.br/j/bjb/a/Q4fPgjH76Dn3Dsy5StTTkyv/?format=pdf&lang=en. Acesso em: 25 nov. 2025.

YU, J. Chemical composition of essential oils and their potential applications in postharvest storage of cereal grains. **Molecules**, Greensboro, v. 30, n. 3, p. 1-31, fev. 2025. Disponível em: https://www.mdpi.com/1420-3049/30/3/683. Acesso em: 15 dez. 2024.

ZINNO, P.; GUANTARIO, B.; LOMBARDI, G.; RANALDI, G.; FINAMORE, A.; ALLEGRA, S.; MAMMANO, M. M.; FASCELLA, G.; RAFFO, A.; ROSELLI, M. Chemical composition and biological activities of essential oils from *Origanum vulgare* genotypes belonging to the carvacrol and thymol chemotypes. **Plants**, Italy, v. 12, n. 6, p. 1–24, mar. 2023. Disponível em: https://iris.uniroma1.it/retrieve/3f3e8dc2-e8e2-49c8-8dd2-8d407eff2c38/Zinno_Chemical-composition_2023.pdf. Acesso em: 20 set. 2025.

ANEXO A - LAUDO TÉCNICO DO OEA

FERQUIMA

LAUDO TÉCNICO
Óleo Essencial de Alecrim
(Rosmarinus Officinalis)

INCI: Rosmarinus officinalis Leaf Oil

Lote: 187	CAS Number: 8000-25-7
Fabricação: Setembro/2023	Validade: Setembro/2025

Itens Controlados	Resultados	Especificações
Aparência	Líquido Límpido	Líquido Límpido
Cor	Amarelo Palha	Incolor a Amarelo Palha
Impurezas	Isento	Isento
Odor	Característico	Característico
Densidade (20ºC)	0,9169	0,900 – 0,930
Índice de Refração (20ºC)	1,4665	1,460 – 1,475
Rotação Ótica	+5,10°	[-2° ; +6°]
Data da Análise	17/10/2023	
Resultado	**Aprovado**	
Origem	Marrocos	
Extração	Destilação a vapor das folhas	
Principais componentes (aprox.)	Eucalyptol = 46,27% Alpha pinene = 13,45% Limonene = 2,61%	Camphre = 17,70% Beta pineno = 7,79%
Obs.: não contém OGM nem foi utilizado para teste em animais.		
Este produto é 100% puro, isento de solvente e diluente e segundo a RDC 481/99, não suscetível a contaminação microbiológica.		

Recomendações Especiais	
Manuseio	Uso de luvas, óculos de segurança ampla visão recomendável. Não ingerir. Evitar contato com a pele, olhos e mucosa. Se isso ocorrer, lavar imediatamente com água límpida em abundância. Em caso de derramamento, absorver o material derramado com material absorvente (areia, terra).
Riscos	Produto inflamável a temperatura acima de 47ºC. Perigo de fogo se exposto ao calor ou fonte de ignição. O líquido provoca irritação na pele, olhos, aparelho respiratório e digestivo. Contato intensivo pode causar leves queimaduras na pele e ou dermatites. Evitar contato com água, 100% biodegradável em 28 dias, não afeta a camada de ozônio, não tem potencial para aquecimento global.
Incêndio	Caso haja fogo, utilizar extintor de pó químico seco e água em forma de neblina, não utilizando jatos de água para não espalhar o produto. Usar equipamento de proteção individual.
Explosividade	Nenhum perigo em condições normais.
Uso	Este produto destina-se ao uso profissional / industrial e como é elaborado a partir de substâncias naturais pode apresentar pequenas variações de cor e cromatografia sem causar qualquer problema na performance do produto.
Armazenamento	Armazenar em local seco, longe de umidade e do calor, protegido da luz, em recipiente original bem vedado. Não reutilizar a embalagem vazia.
Transporte	Número de risco:30 / Número da ONU:1169 / Classe ou Subclasse de risco: 3 / Descrição da classe ou subclasse: Líquidos Inflamáveis / Grupo de Embalagem: III

As informações contidas nesta publicação representam o melhor de nosso conhecimento. Entretanto, nada aqui mencionado deve ser entendido como garantia de uso. Os consumidores devem efetuar seus próprios ensaios para determinar a viabilidade da aplicação.

Engenheira Química Responsável: Alice Lasthaus CRQ: IV 04330754

Empresarial Raposo Tavares - Alameda 4, 76 • Vargem Grande Paulista • SP • CEP: 06730-000
Tel.: 11.3500.6108 / 11.3500.6109 - WhatsApp.: 11.98346.0743
e-mail: atendimento@ferquima.com.br
www.ferquima.com.br
FERQUIMA Ind. e Com. Ltda

ANEXO B - LAUDO TÉCNICO DO OELS

FERQUIMA

LAUDO TÉCNICO
Óleo Essencial de Limão Siciliano
(Citrus limon (L.) Burm)

INCI: Citrus limon Peel Oil

Lote: 192	CAS Number: 84929-31-7
Fabricação: Setembro/2023	Validade: Março/2025

Itens Controlados	Resultados	Especificações
Aparência	Líquido Límpido	Líquido Límpido
Cor	Amarelo á Castanho	Amarelo á Castanho
Impurezas	Isento	Isento
Odor	Característico, cítrico	Característico, cítrico
Densidade (20ºC)	0,8462	0,835 – 0,865
Índice de Refração (20ºC)	1,4731	1,465 – 1,485
Data da Análise	25/09/2023	
Resultado	**Aprovado**	
Origem	Brasil	
Obtenção	Prensagem a frio das cascas dos frutos.	
Principais Componentes (valores aproximados)	d-limomeno = 68,18% Citral = 1,65%	
Obs.: não contém OGM nem foi utilizado para teste em animais.		
Este produto é 100% puro, isento de solvente e diluente e segundo a RDC 481/99, não suscetível a contaminação microbiológica.		

Recomendações Especiais

Manuseio	Uso de luvas, óculos de segurança ampla visão recomendável. Evitar contato com a pele, olhos e mucosa. Se isso ocorrer, lavar imediatamente com água límpida em abundância. Em caso de derramamento, absorver o material derramado com material absorvente (areia, terra).
Riscos	Produto inflamável a temperatura acima de 46oC. Perigo de fogo se exposto ao calor ou fonte de ignição. O líquido provoca irritação na pele, olhos, aparelho respiratório e digestivo. Contato intensivo pode causar leves queimaduras na pele e ou dermatites. Evitar contato com água, 100% biodegradável em 28 dias, não afeta a camada de ozônio, não tem potencial para aquecimento global.
Incêndio	Caso haja fogo, utilizar extintor de pó químico seco e água em forma de neblina, não utilizando jatos de água para não espalhar o produto. Usar equipamento de proteção individual.
Explosividade	Nenhum perigo em condições normais.
Uso	Este produto destina-se ao uso profissional / industrial e como é elaborado a partir de substâncias naturais pode apresentar pequenas variações de cor e cromatografia sem causar qualquer problema na performance do produto.
Armazenamento	Armazenar em local seco, longe de umidade e do calor, protegido da luz, em recipiente original bem vedado. Não reutilizar a embalagem vazia.
Transporte	Número de risco:30 / Número da Onu:2319 / Classe: 3 / LÍQUIDO INFLAMÁVEL

As informações contidas nesta publicação representam o melhor de nosso conhecimento. Entretanto, nada aqui mencionado deve ser entendido como garantia de uso. Os consumidores devem efetuar seus próprios ensaios para determinar a viabilidade da aplicação.

Engenheira Química Responsável: Alice Lasthaus CRQ: IV 04330754

Empresarial Raposo Tavares - Alameda 4, 76 • Vargem Grande Paulista • SP • CEP: 06730-000
Tel.: 11.3500.6108 / 11.3500.6109 - WhatsApp.: 11.98346.0743
e-mail: atendimento@ferquima.com.br
www.ferquima.com.br
FERQUIMA Ind. e Com. Ltda

ANEXO C - LAUDO TÉCNICO DO OEO

FERQUIMA

LAUDO TÉCNICO
Óleo Essencial de Orégano
(Origanum vulgare)

INCI: Origanum vulgare Leaf Oil

Lote: 250	CAS Number: 84012-24-8
Fabricação: Agosto/2023	Validade: Agosto/2025

Itens Controlados	Resultados	Especificações
Aparência	Líquido Límpido	Líquido Límpido
Cor	Marrom Escuro	Amarelo Claro Esverdeado a Marrom Escuro
Impurezas	Isento	Isento
Odor	Característico, especiaria	Característico, especiaria
Densidade (20ºC)	0,9387	0,935 – 0,970
Índice de Refração (20ºC)	1,5088	1,500 – 1,520
Rotação Ótica	-0,95º	[-5º ; +2º]
Data da Análise	01/09/2023	
Resultado	**Aprovado**	
Origem	Moldávia	
Extração	Destilação a vapor das folhas	
Principais componentes (valores aproximados)	Carvacrol= 62,44% Gama-terpineno= 4,61% Linalol= 2,74%	Timol= 2,48% Para-cimeno= 4,88% Beta-cariofileno= 3,24%
Obs.: não contém OGM nem foi utilizado para teste em animais.		
Este produto é 100% puro, isento de solvente e diluente e segundo a RDC 481/99, não suscetível a contaminação microbiológica.		

Recomendações Especiais	
Manuseio	Não ingerir. Evitar contato com a pele, olhos e mucosa. Se isso ocorrer, lavar imediatamente com água límpida em abundância. Em caso de derramamento, absorver o material derramado com material absorvente (areia, terra).
Incêndio	Produto inflamável a temperatura acima de 65ºC. Caso haja fogo, utilizar extintor de pó químico seco e água em forma de neblina, não utilizando jatos de água para não espalhar o produto.
Explosividade	Nenhum perigo em condições normais.
Uso	Este produto destina-se ao uso profissional / industrial e como é elaborado a partir de substâncias naturais pode apresentar pequenas variações de cor e cromatografia sem causar qualquer problema na performance do produto.
Armazenamento	Armazenar em local seco, longe de umidade e do calor, protegido da luz, em recipiente original bem vedado. Não reutilizar a embalagem vazia.
Transporte	Número de risco:60 / Número da ONU:2810 / Classe ou Subclasse de risco: 6.1 / Descrição da classe ou subclasse: Substâncias tóxicas / Grupo de Embalagem: III

As informações contidas nesta publicação representam o melhor de nosso conhecimento. Entretanto, nada aqui mencionado deve ser entendido como garantia de uso. Os consumidores devem efetuar seus próprios ensaios para determinar a viabilidade da aplicação.

Engenheira Química Responsável: Alice Lasthaus CRQ: IV 04330754

Empresarial Raposo Tavares - Alameda 4, 76 • Vargem Grande Paulista • SP • CEP: 06730-000
Tel.: 11.3500.6108 / 11.3500.6109 - WhatsApp.: 11.98346.0743
e-mail: atendimento@ferquima.com.br
www.ferquima.com.br
FERQUIMA Ind. e Com. Ltda

ANEXO D - COMPOSIÇÃO DO OEA

FERQUIMA

Vargem Grande Paulista, 26 de outubro 2023.

Assunto: Composição *Breakdown*

Óleo Essencial de Alecrim

Prezado Cliente,

Conforme solicitado, estamos remetendo em caráter estritamente confidencial a composição *breakdown* do produto em referência.

INCI name	Concentração (%)
Rosmarinus Officinalis Leaf Oil	100,00

Colocamo-nos à disposição para esclarecimentos que julgar necessários

Atenciosamente,

Alice Lasthaus
Alice Lasthaus
Responsável Técnico
CRQ: IV 04330754
Ferquima Ind Com Ltda.

Empresarial Raposo Tavares - Alameda 4, 76 • Vargem Grande Paulista • SP • CEP: 06730-000
Tel.: 11.3500.6108 / 11.3500.6109 - WhatsApp.: 11.98346.0743
e-mail: atendimento@ferquima.com.br
www.ferquima.com.br
FERQUIMA Ind. e Com. Ltda

ANEXO E - COMPOSIÇÃO DO OELS

FERQUIMA

Vargem Grande Paulista, 26 de outubro 2023.

Assunto: Composição *Breakdown*

Óleo Essencial de Limão Siciliano

Prezado Cliente,

Conforme solicitado, estamos remetendo em caráter estritamente confidencial a composição *breakdown* do produto em referência.

INCI name	Concentração (%)
Citrus limon Peel Oil	100,00

Colocamo-nos à disposição para esclarecimentos que julgar necessários

Atenciosamente,

Alice Lasthaus

Alice Lasthaus
Responsável Técnico
CRQ: IV 04330754
Ferquima Ind Com Ltda.

Empresarial Raposo Tavares - Alameda 4, 76 • Vargem Grande. Paulista • SP • CEP: 06730-000
Tel.:11.3500.6108 / 11.3500.6109 - WhatsApp.:11.98346.0743
e-mail: atendimento@ferquima.com.br
www.ferquima.com.br
FERQUIMA Ind. e Com. Ltda

ANEXO F - COMPOSIÇÃO DO OEO

FERQUIMA

Vargem Grande Paulista, 26 de outubro 2023.

Assunto: Composição *Breakdown*

Óleo Essencial de Orégano

Prezado Cliente,

Conforme solicitado, estamos remetendo em caráter estritamente confidencial a composição *breakdown* do produto em referência.

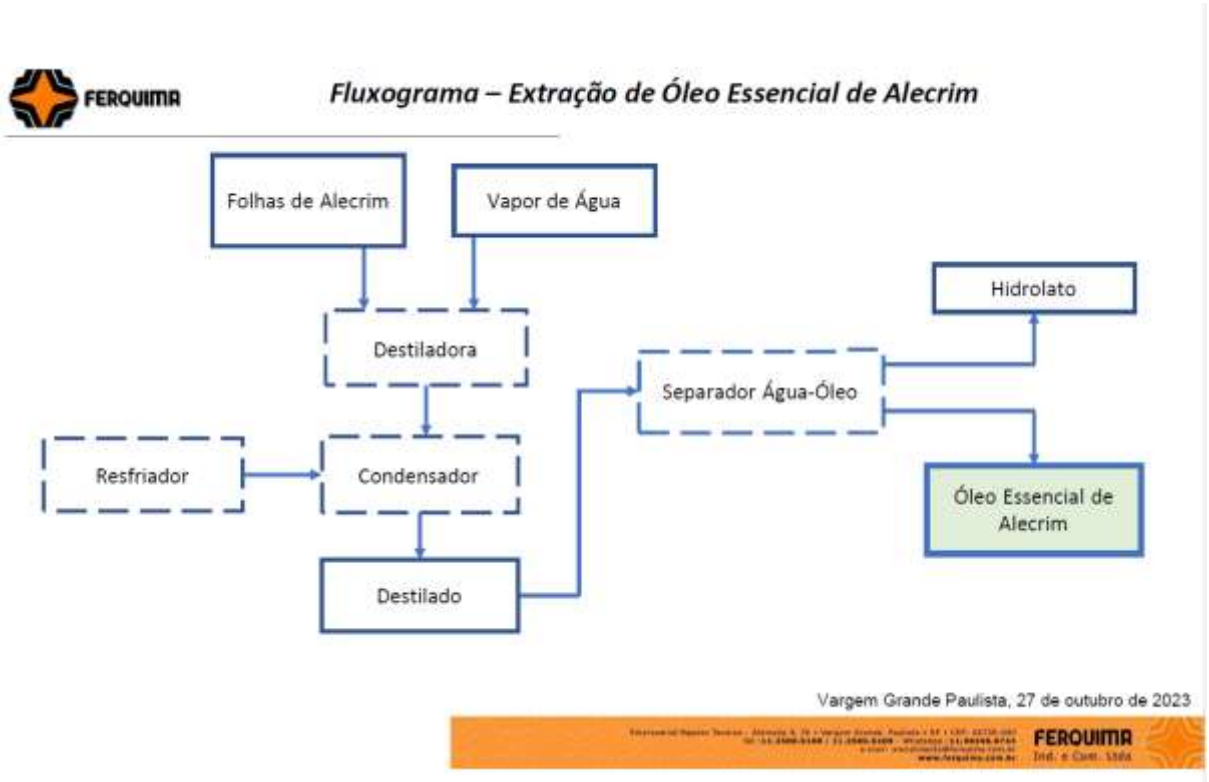
INCI name	Concentração (%)
Origanum vulgare Leaf Oil	100,00

Colocamo-nos à disposição para esclarecimentos que julgar necessários

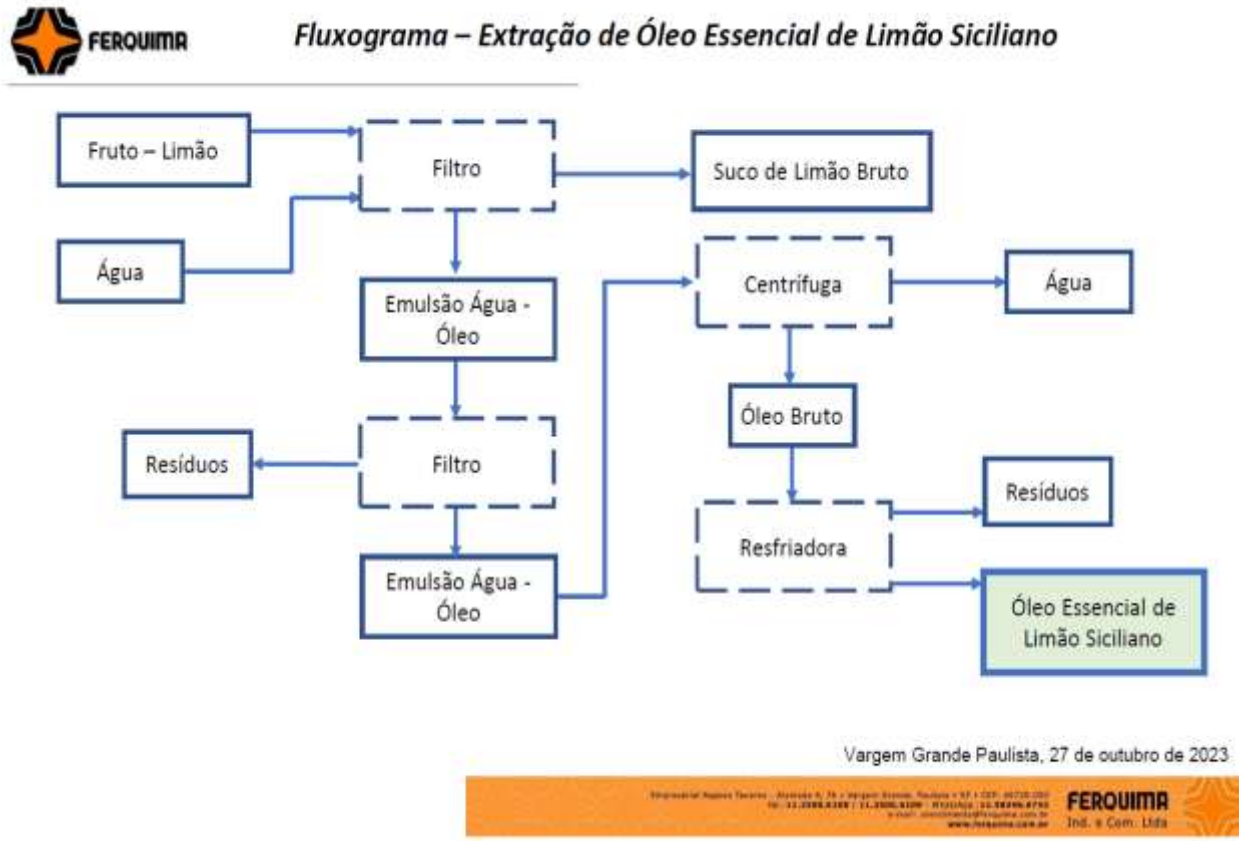
Atenciosamente,

Alice Lasthaus
Alice Lasthaus
Responsável Técnico
CRQ: IV 04330754
Ferquima Ind Com Ltda.

ANEXO G - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DO OEA



ANEXO H - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DO OELS



ANEXO I - FLUXOGRAMA DA EXTRAÇÃO DO OEO

