

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO VOLÁTIL DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* L. EM SALAME TIPO ITALIANO

Cristiane Marangoni¹
Neusa F. De Moura²

RESUMO

O óleo volátil de *Rosmarinus officinalis* L. foi usado como aditivo natural em salame tipo Italiano, com objetivo de estudar sua influência sobre a flora microbiológica normalmente desenvolvida pelo produto. O óleo volátil foi utilizado em duas concentrações 0,01 e 0,005% sobre o produto final, apresentando ambas as concentrações efeito significativo na inibição de *Staphylococcus aureus* e bactérias aeróbias mesófilas frente à amostra-controle, aumentando a segurança do produto ao consumidor.

Palavras-chave. *Rosmarinus officinalis* L.. Óleo volátil. Antimicrobiano. Salame.

ABSTRACT

The volatile oil from *Rosmarinus officinalis* L. was used as natural additive in Italian salami, with the objective to study its influence on the microbiological flora normally developed by the product. The volatile oil was used in two concentrations 0.01% and 0.005% on the end item, presenting both the concentrations effect significantly over the reduction of *Staphylococcus aureus* and total microbial count, increasing the product safety to the consumer.

Keywords. *Rosmarinus officinalis* L., volatile oil, antimicrobial, salami.

1 INTRODUÇÃO

Segundo HUGAS [12], a carne e seus derivados apresentam alta susceptibilidade às contaminações bacterianas, provocando redução de suas propriedades nutritivas, alterações organolépticas indesejáveis e risco à saúde do consumidor, podendo veicular microorganismos patogênicos e/ou suas toxinas.

Como não é submetido a tratamento térmico, o salame Tipo Italiano é muitas vezes responsável pela veiculação de patógenos como *Staphylococcus aureus*, *salmonella*, *listeria* e *Escherichia coli* [17].

¹Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Comunitária Regional de Chapecó. Chapecó, SC; Correspondência: Cristiane Marangoni, Nereu Ramos 2876 E, CEP: 89805-102. Chapecó SC, (eng.cristiane@gmail.com).

² Departamento de Produtos Naturais, FURG - EQA. Santo Amaro da Patrulha – RS.

Sua segurança microbiológica depende da combinação de vários métodos de conservação baseados em fatores como pH baixo, atividade de água baixa, presença de cloreto e nitrato de sódio e outros agentes antimicrobianos adicionados durante o processamento ou produzidos durante o processo fermentativo [2, 17].

A demanda dos consumidores por alimentos seguros à saúde tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, desencadeando a busca por novos ingredientes e aditivos que tenham ação antimicrobiana e que possam substituir ou atuar de forma sinérgica com conservantes químicos, os quais têm sido restringidos devido ao seu potencial de carcinogênese [7, 21].

Os óleos essenciais e outros componentes de ervas e condimentos são usados extensivamente na preparação de alimentos, sendo muitos destes classificados como GRAS – “Generally Recognized as Safe” [11, 14]. Além de apresentarem substâncias que influenciam no desenvolvimento da textura, flavor e coloração durante a etapa de maturação, estes óleos essenciais apresentam-se como fonte promissora de agentes antimicrobianos, que em sua maioria, são compostos fenólicos resultantes do metabolismo secundário das plantas [17].

Segundo SOARES et al.,[21], os princípios ativos das especiarias e condimentos localizam-se na fração do óleo essencial, os quais contêm diferentes compostos, que contribuem com as propriedades antimicrobianas.

Diferentes cultivares de alecrim e diversas origens genéticas, associadas aos aspectos ambientais de crescimento particulares de cada região, ao tempo de colheita e o tipo de destilação influenciam a composição química e o rendimento dos óleos essenciais produzidos [22]. O óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), pertencente a família *Lamiaceae* apresenta como principais constituintes α -pineno (25%), β -pineno, cineol (15-30%); cânfora (10-25%). Possui álcoois monoterpênicos como o borneol, e ésteres como o acetato de bornila [8].

Neste trabalho tem-se como objetivo geral a análise do óleo volátil de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) no que diz respeito às suas propriedades antimicrobianas para uso em produto cárneo do tipo salame Italiano.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do óleo volátil

Foram adquiridas amostras de alecrim aleatoriamente em feiras municipais de Chapecó – SC. Para obtenção do óleo volátil utilizou-se a metodologia de arraste a vapor descrita por KOKETSU & GONÇALVES [15].

2.2 Formulação do salame Italiano

O salame Italiano foi elaborado de acordo com a seguinte formulação: 70% de pernil suíno, 15% de alcatra bovina, 10% de toucinho, e 5% de ingredientes não cárneos como sal, glicose, condimentos, nitrato de sódio, nitrito de sódio, eritorbato de sódio e cultura Combi Starter®.

2.3 Processamento

As carnes bovina, suína e o toucinho foram moídos em moedor de carne utilizando disco de 8 mm. As carnes moídas foram colocadas em uma misturadeira marca INCOMAF modelo MT 96, na qual acrescentaram-se os ingredientes e misturou-se por um tempo total de 6 minutos.

Esta formulação foi dividida em três partes iguais conforme Tabela 1.

Tabela 1: Tratamentos realizados durante processamento do Salame Italiano.

Tratamentos	Atribuições
Controle	Amostra sem óleo de alecrim.
Tratamento 1	Amostra com 0,01% de óleo de alecrim.
Tratamento 2	Amostra com 0,005% de óleo de alecrim.

As três formulações foram embutidas em tripas de colágeno calibre 70 mm, com auxílio de embutideira manual.

Embutidos, os salames foram pendurados em varas e submetidos à defumação em fumeiro durante 24 horas a temperaturas entre 28 e 36°C. Após defumação, os salames permaneceram por 35 dias em sala de maturação com temperaturas entre 16 e 18°C, umidade relativa entre 71 e 79%, e ventilação de ar de 0,5m/s.

2.4 Análises Físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas semanalmente, durante os 35 dias de maturação dos embutidos.

A determinação de proteína foi realizada pelo método Kjeldahl, descrito por LANARA, [16], o qual determina o teor de nitrogênio de origem orgânica, através de uma digestão (hidrólise lenta) da amostra seguida de destilação e titulação.

O conteúdo de umidade foi determinado de acordo com o método LANARA, [16], o qual fundamenta-se na remoção de umidade e substâncias voláteis contidas no alimento por aquecimento em estufa a 105 °C, sendo posteriormente determinada pela perda de peso.

O teor de gordura foi determinado através de extração com hexano, com extrator Soxhlet, método AOAC 960.39 (1990).

A atividade de água (Aw) foi realizada triturando o salame e submetendo-o a leitura em equipamento marca Aqua Lab modelo 3TE.

A análise de pH foi realizada com auxílio de pHmetro marca Quimis, modelo Q400A.

2.5 Análises Microbiológicas

Foram analisados somente os microorganismos que apresentam desenvolvimento em salames, conforme apresentados pela Resolução nº12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA/MS (Tabela 5). As análises foram realizadas semanalmente, durante os 35 dias de maturação dos embutidos.

A contagem total em placas de bactérias aeróbias mesófilas, de *Staphylococcus aureus* e *salmonella*, foi realizada conforme método descrito por Lanara [16].

A contagem total de coliformes fecais foi realizada pela técnica de N.M.P. descrita pelo ICMSF – International Commission on microbiological Specification for Foods [13].

A pesquisa de *Clostridium* sulfito redutores foi realizada de acordo com Brasil [6].

2.6 Análise estatística

Os dados experimentais foram obtidos de análises em triplicata. Aplicou-se o teste de Tukey para comparação das médias e localização das diferenças ao nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os tratamentos 1 e 2, utilizando óleo volátil de alecrim, resultaram em um produto com características físico-químicas dentro dos parâmetros esperados para um salame tipo Italiano (Tabela 2).

Tabela 2: Parâmetros físico-químicos avaliados durante maturação dos embutidos.

Parâmetros	Padrões estabelecidos pela Instrução Normativa n° 22 de 31 de julho de 2000.	Resultados		
		C	1	2
Proteína	(mín) 25%	27,61	26,75	26,31
Umidade	(máx) 35%	34,20	34,70	34,82
Gordura	(máx) 32%	27,90	28,05	28,15
Aw	(máx) 0,9	0,845	0,850	0,845

A Figura 1 apresenta os valores médios de pH durante a maturação do embutido, sendo o pH final alcançado de 5,11, 5,13 e 5,10 para os tratamentos Controle, 1 e 2, respectivamente.

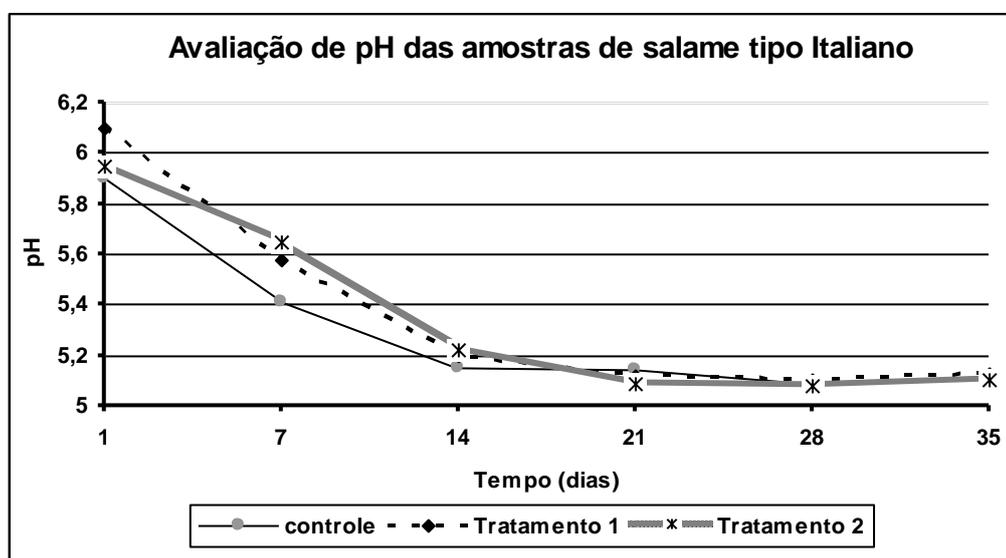


Figura 1: Valores de pH durante a maturação de embutido.

Observa-se pelo perfil de queda de pH, que este decaiu mais intensamente do 1° ao 14° dia de cura do embutido. Decorrido este tempo, a velocidade de queda de pH foi menor, visto que, com o início da desidratação do produto, há provável efeito na ação dos

microorganismos. Estes dados são similares aos observados por DETONI [9], que verificou a queda de pH mais intensa nos dois primeiros dias após o embutimento, sendo no final do processo quase imperceptível, e por REIS [20], o qual observou queda intensa de pH nas primeiras 72 horas após o embutimento.

Não foi detectada a presença de *salmonella* no produto do 1° ao 35° dia de avaliação.

A contagem total de coliformes fecais permaneceu a mesma para as três amostras do início ao fim das análises. O valor apresentado foi $<1,0 \times 10$ (NMP/g), o qual não ultrapassou os padrões exigidos pela Resolução n°12 de 2 de janeiro de 2001 para produtos cárneos maturados (salame) de 10^3 (NMP/g).

A análise de *clostridium* sulfitos redutores não ultrapassou os valores previstos pela legislação de 3×10^3 (UFC/g). Os resultados dos três testes apresentaram o mesmo valor em todos os dias de avaliação, sendo este $<1,0 \times 10$ (UFC/g).

Foi observada variabilidade entre as repetições dos dados de contagem de colônias de *Staphylococcus aureus*. Os resultados médios, entretanto, indicam uma redução do ciclo logarítmico no número de células viáveis, a qual pode ser atribuída à maior resistência dessa bactéria a fatores como o sal presente nos embutidos fermentados e também a baixa A_w , onde o *Staphylococcus aureus* é capaz de crescer em meios com A_w tão baixos quanto 0,83 [3].

Verificou-se diferença significativa ao nível de 5% de significância no número de UFC/g de *Staphylococcus aureus* nos embutidos do tratamento controle em relação aos embutidos utilizando óleo de alecrim (Tratamentos 1 e 2) (Tabelas 3 e 4). Nassu, [19] obteve resultados semelhantes, na ordem de <10 (UFC/g) de *Staphylococcus aureus* utilizando óleo de alecrim, o qual possui como principais constituintes o pineno e o borneol.

A ação bactericida do alecrim contra *Staphylococcus aureus* em carnes tem sido muito citada [18]. O óleo de alecrim demonstrou melhor efeito sobre *Staphylococcus aureus* que o óleo essencial de cravo-da-índia utilizado em concentração de 0,2% sobre o produto final por MAGNANI [17] em salame tipo italiano.

Foi observada alta sensibilidade de bactérias Gram positivas aos óleos essenciais de alecrim e sálvia provenientes do Egito, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus*, sp. e *Sarcina* sp., bem como a levedura *Saccharomyces cerevisiae* [10].

Entre os embutidos contendo diferentes concentrações de óleo de alecrim foi detectada diferença significativa no número de UFC/g de *Staphylococcus aureus* ao nível de 5% de significância no 1, 7, 21, 28 e 35° dia.

Tabela 3: Avaliação de *Staphylococcus aureus* (UFC/g) durante a maturação para os diferentes tratamentos.

Tratamentos	Tempo (dias)					
	1	7	14	21	28	35
Controle	1,0x10 ^a					
Tratamento 1	<1,0x10 ^b					
Tratamento 2	<1,0x10 ^b	<1,0x10 ^b	1,0x10 ^a	1,0x10 ^a	1,0x10 ^a	1,0x10 ^a

Para cada contagem de microorganismo na vertical, médias com as mesmas letras não diferem significativamente ($\alpha = 0,05$).

Tabela 4: Contagem média dos microorganismos aeróbios mesófilos (UFC/g) durante a maturação para os diferentes tratamentos.

Tratamentos	Tempo (dias)					
	1	7	14	21	28	35
Controle	8,0x10 ^{5 a}	4,0x10 ^{6 a}	6,0x10 ^{6 a}	7,8x10 ^{6 a}	9,3x10 ^{6 a}	2,0x10 ^{7 a}
Tratamento 1	3,1x10 ^{5 b}	4,6x10 ^{5 b}	1,9x10 ^{6 b}	2,3x10 ^{6 b}	2,4x10 ^{6 b}	3,6x10 ^{6 b}
Tratamento 2	3,8x10 ^{5 c}	7,2x10 ^{5 c}	2,0x10 ^{6 b}	3,6x10 ^{6 c}	4,5x10 ^{6 c}	5,7x10 ^{6 c}

Para cada contagem de microorganismo na vertical, médias com as mesmas letras não diferem significativamente ($\alpha = 0,05$).

Tabela 5: Padrões microbiológicos estabelecidos pela RDC n°12 do Ministério da Saúde.

Microorganismo	Padrão RDC n°12
<i>Salmonella sp.</i>	ausente
Coliformes totais	-
Coliformes fecais	<10 ³
<i>Staphylococcus aureus</i>	<5,0x10 ³
Contagem de mesófilos	-
<i>Clostridium</i> sulfito redutores	<3,0x10 ³

4 CONCLUSÃO

A elaboração do embutido utilizando óleo volátil de alecrim resultou em um produto com características dentro dos padrões físico-químicos e microbiológicos esperados.

Com relação a sua ação antimicrobiana, observou-se que o óleo volátil de alecrim apresentou efeito inibitório sobre o crescimento de mesófilos e *Staphylococcus aureus*, mas não para, *clostridium sulfito redutores*, e coliformes fecais.

Os condimentos apresentam-se como uma fonte promissora de agentes antimicrobianos, para serem utilizados em produtos cárneos visando a assegurar um produto final de melhor qualidade microbiológica e menos nocivo a saúde. Assim, sugerem-se mais estudos para conhecer os mecanismos de ação deste óleo sobre os diferentes grupos microbianos presentes nos alimentos, em especial salame tipo Italiano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 15 ed. Washington: AOAC, 1990. 1298p.
- [2] BACUS, J.N. Update: Meat Fermentation. **Food Technology**. v. 38, n. 6, p.59-70, 1984.
- [3] BERGDOLL, M.S. Staphylococcal Food Poisoning. **Foods Diseases**. London: Academic Press Limited, 1990, p.186-204.
- [4] BRASIL. Resolução n. 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2001.
- [5] BRASIL. Instrução Normativa n. 22, de 31 de julho de 2000. Regulamento técnico de identidade e qualidade do salame tipo italiano. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 3 ago. 2000, Seção 1, n.149, p. 24-25.
- [6] BRASIL. Instrução Normativa n.62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Ministério da Agricultura e do Abastecimento**, Brasília, DF, 18 set. 2003, Seção 1, n.181, p. 14-51.

[7] DEGÁSPARI, C.H., WASZCZYNSKYJ, N., PRADO, R.M. Atividade Antimicrobiana de *Schinus terebenthifolius* Raddi. **Ciênc. Agrotec.**, v. 29, n. 3, p. 617-622, 2005.

[8] DELAQUIS, P. J., STANICH, K., GIRARD, B., MAZZA, G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, p. 101-109, 2002.

[9] DETONI, C.J. Salame tipo Italiano: Processo de cura rápida, **Revista Nacional da Carne**. outubro, 1985. p. 35-37.

[10] FARAG, R.S.; DAW, Z.Y.; ABO-RAYA, S.H. Influence of some spice essential oils on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. **Journal of Food Science**, v. 54, n. 1, p. 74-76, jan./Fev. 1989.

[11] HAO, Y. Y. BRACKETT, R. E., DOYLE, M. P. Efficacy of plant extracts in inhibiting *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in refrigerated, cooked poultry. **Food Microbiology**, n. 15, p. 367-378, 1998.

[12] HUGAS, M. Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the preservation of meat and meat products. **Meat Sci.**, v. 49, Supplement 1, p.139-150, 1998.

[13] ICMSF – International Commission on microbiological Specification for Foods. **Microrganismos de los alimentos**. Técnicas de análises microbiológicas, v.2, 2º ed, Zaragoza: Editora Acribia, 1983.

[14] KIM, J., MARSHALL, M. R. WEI, C. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 43, p. 2839-2845, 1995.

[15] KOKETSU, M., GONÇALVES, S. L. **Óleos essenciais e sua extração por arraste a vapor**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1991. 24 p. (Documentos 8).

[16] LANARA (Laboratório Nacional de Referência Animal). **Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes**. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981. v.1, Métodos Microbiológicos.

[17] MAGNANI, A.L. **Efeito do cravo (*Syzygium aromaticum*) sobre *salmonella* e *Staphylococcus aureus* em salame tipo italiano**. Viçosa, Minas Gerais, p.44, 2001.

[18] MIRALLES, J. Distilled Labiatae oils from Spain. **Perfumer & Flavourist**, v.23, n. 3, p. 15-17, May/Jun., 1998.

[19] NASSU, R. T. **Utilização de carne de caprinos no processamento de embutido fermentado, Tipo Salame**. Campinas, 1999, 154p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

[20] REIS, A.G. B; SOARES, G.J.D. Salame Colonial Processado com Carne Suína e Ovina. **Rev. Brás. de Agrociência**. v. 2, n.2. p.115-120, 1998.

[21] SOARES, A.L. et al. Ingredientes e aditivos para carnes: segurança e inovação. **Revista Nacional da Carne**. n. 317, julho, 2003.

[22] SVOBODA, K.P.; DEANS, S.G. A study of the variability of rosemary and sage and their volatile oils on the British market: their antioxidative properties. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 7, n. 2, p. 81-87, April 1992.