

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO DE SÁLVIA *OFFICINALIS* L. APLICADO EM SALAME ITALIANO.

Cristiane Marangoni

eng.cristiane@gmail.com

RESUMO: O óleo volátil de *salvia officinalis* L. foi usado como aditivo natural em salame tipo Italiano, com objetivo de estudar sua influência sobre a flora microbiana normalmente desenvolvida pelo produto. O óleo volátil foi utilizado em duas concentrações 0,010 e 0,005% sobre o produto final. Ambas as concentrações reduziram a inibição de *Staphylococcus aureus* e bactérias aeróbias mesófilas frente à amostra-controle, aumentando a segurança do produto ao consumidor.

Palavras-chave. *Sálvia officinalis* L., óleo volátil, antimicrobiano, salame.

1 INTRODUÇÃO

Segundo Hugas (1998), 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* (MAGNANI, 2001). Sua segurança microbiológica depende da combinação de vários métodos de conservação baseados em fatores como redução de pH e atividade de água, presença de cloreto e nitrato de sódio e outros agentes antimicrobianos adicionados durante o processamento ou produzidos durante o processo fermentativo. (BACUS, 1984).

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. (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; PRADO, 2005; SOUZA, 2003).

As propriedades antimicrobianas de substâncias extraídas de plantas vêm sendo comprovadas recentemente pela ciência e de acordo com pesquisas realizadas em vários países, entre eles o Brasil, detentor de uma grande biodiversidade, os extratos e óleos essenciais de algumas espécies de plantas, como *Piper regnellii*, *Eugenia uniflora* L., *Salvia officinalis* L., *Bryophyllum pinnatum* Kurz.; entre outras, mostraram-se eficientes no controle do crescimento de microorganismos relatados por Pessini et al (2003), Souza, (2003), Pereira et al (2004) e Schmitt et al. (2003).

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” (HAO; BRACKETT; DOYLE, 1998; KIM; MARSHALL; WEI, 1995). 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, apresentando atividade bacteriostática e bactericida, retardando o começo da deterioração e o crescimento de microorganismos indesejáveis e interferindo significativamente na epidemiologia e profilaxia de surtos toxinfetivos alimentares (BEDIN; GUTKOSKI; WEST, 1999; MAGNANI, 2001; SOUZA; 2003).

Segundo Souza et al. (2004), os princípios ativos das especiarias e condimentos localizam-se na fração do óleo essencial, os quais contêm diferentes compostos, que em sua maioria, são compostos fenólicos resultantes do metabolismo secundário das plantas os quais contribuem com as propriedades antimicrobianas.

O óleo de sálvia (*Salvia officinalis* L.) apresenta como principais constituintes cetonas monoterpênicas como α e β tujonas, monoterpenos como α -pineno, mirceno, canfeno, limoneno, ocimeno, alo-ocimeno e p-canfeno (35-60%). Também possui álcoois como o α -terpineol e 1,8-cineol. (GROSSMAN, 2005).

Esta pesquisa teve como objetivo a análise do óleo volátil de sálvia (*Salvia 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 de sálvia

Foram adquiridas amostras de sálvia aleatoriamente em feiras municipais de Chapecó – SC. Para obtenção do óleo volátil, utilizou-se a metodologia de arraste a vapor descrita por Koketsu e Gonçalves (1991).

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 sálvia.
Tratamento 1	Amostra com 0,010% de óleo de sálvia.
Tratamento 2	Amostra com 0,005% de óleo de sálvia.

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 (1981), 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 (1981), 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. (AOC, 1990).

A atividade de água (A_w) 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 (1981).

A contagem total de coliformes fecais foi realizada pela técnica de N.M.P. descrita pelo ICMSF – International Commission on microbiological Specification for Foods. (ICMSF, 1983).

A pesquisa de *Clostridium* sulfito redutores foi realizada de acordo com Brasil (2003).

2.6 Análise estatística

Os dados experimentais foram obtidos de um total de três repetições dos testes, sendo que cada teste foi avaliado cinco vezes. Aplicou-se o teste de Tukey para comparação das médias e localização das diferenças ao nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

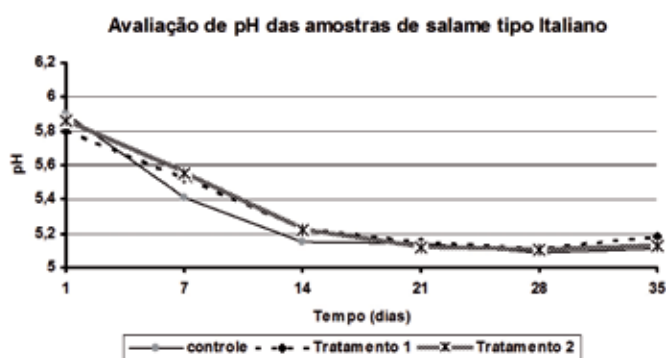
Os tratamentos que receberam adição de óleo de sálvia (1 e 2), resultaram em um produto com características físico-químicas dentro dos parâmetros esperados para um salame Italiano (Tabela 2).

Tabela 2 – Parâmetros físico-químicos avaliados durante maturação dos Tratamentos de salame tipo Italiano.

Parâmetros	Padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 22 de 31 de julho de 2000 (BRASIL, 2000).	Resultados		
		C	1	2
Proteína	(mín) 25%	27,61	26,40	26,15
Umidade	(máx) 35%	34,20	33,70	34,10
Gordura	(máx) 32%	27,90	28,31	28,10
Aw	(máx) 0,9	0,845	0,861	0,858

A Figura 1 apresenta os valores médios de pH durante a maturação do embutido, sendo o pH final alcançado de 5,11, 5,18 e 5,13 para os tratamentos Controle, 1 e 2, respectivamente.

Figura 1 – Valores de pH durante a maturação do salame tipo Italiano.



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 (1985), 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 e Soares (1998), o qual observou queda intensa de pH nas primeiras 72 horas após o embutimento.

Não foi detectada a presença de *salmonella* no produto do 1º ao 35º 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 $<1,0 \times 10^3$ (NMP/g), o qual não ultrapassou os padrões exigidos pela Resolução nº12 de 2 de janeiro de 2001 para produtos cárneos maturados (salame) de 10^3 (NMP/g). (BRASIL, 2001).

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 $<1,0 \times 10^3$ (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. (BERGDOLL, 1990).

Verificou-se diferença significativa a 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 sálvia (Tratamentos 1 e 2) (Tabelas 3 e 4).

O óleo de sálvia 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 (2001) em salame tipo italiano.

Entre os embutidos contendo diferentes concentrações de óleo não foi detectada diferença significativa no número de UFC/g de *Staphylococcus aureus* ao nível de 5% de significância do 1º ao 21º 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	$1,0 \times 10^a$	$1,0 \times 10^a$	$1,0 \times 10^a$	$1,0 \times 10^a$	$1,0 \times 10^a$	$1,0 \times 10^a$
Tratamento 1	$<1,0 \times 10^b$	$<1,0 \times 10^b$	$<1,0 \times 10^b$	$<1,0 \times 10^b$	$<1,0 \times 10^b$	$<1,0 \times 10^b$
Tratamento 2	$<1,0 \times 10^b$	$<1,0 \times 10^b$	$<1,0 \times 10^b$	$<1,0 \times 10^b$	$1,0 \times 10^a$	$1,0 \times 10^a$

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	3,4x10 ^{5 b}	4,9x10 ^{5 b}	2,1x10 ^{6 b}	2,4x10 ^{6 b}	2,6x10 ^{6 b}	3,5x10 ^{6 b}
Tratamento 2	3,9x10 ^{5 c}	6,9x10 ^{5 c}	2,2x10 ^{6 b}	3,9x10 ^{6 c}	4,1x10 ^{6 c}	6,2x10 ^{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 sulfito redutores</i>	<3,0x10 ³

4 CONCLUSÕES

A utilização de óleo volátil de sálvia em salame tipo Italiano resultou em um produto com características dentro dos padrões físico-químicos e microbiológicos esperados para produtos curados.

Com relação a sua ação antimicrobiana, observou-se que o óleo volátil de sálvia 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.

ANTIMICROBIAL EVALUATION OF CAPACITY OIL *SALVIA OFFICINALIS* L. APPLIED IN ITALIAN SALAMI

ABSTRACT: The volatile oil from *Salvia 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. Both concentrations reduced the inhibition of *Staphylococcus aureus* and total microbial count, increasing the product safety to the consumer.

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

REFERÊNCIAS

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 15 ed. Washington: AOAC, 1990. 1298 p.

BACUS, J.N. Update: Meat Fermentation. **Food Technology**, v. 38, n. 6, p.59-70, 1984.

BEDIN, C.; GUTKOSKI, S.B.; WEST, J.M. Atividade antimicrobiana das especiarias. **Higiene alimentar**, São Paulo, v.13, n.65, p.26-9, 1999.

BERGDOLL, M.S. Staphylococcal Food Poisoning. **Foods Diseases**. London: Academic Press Limited, 1990, p.186-204.

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.

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.

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.

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

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

GROSSMAN, L. Óleos essenciais na culinária, cosmética e saúde. São Paulo: Optionline, 2005. 301 p.

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.

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

ICMSF – International Commission on Microbiological Specification for Foods. **Microrganismos de los alimentos**. Técnicas de análisis microbiológicas. 2. ed. Zaragoza: Editora Acribia, 1983. v. 2.

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.

KOKETSU, M.; GONÇALVES, S. L. Óleos essenciais e sua extração por arraste a vapor. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1991. 24 p.

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.

MAGNANI, A. L. **Efeito do cravo (*Syzygium aromaticum*) sobre salmonella e *Staphylococcus aureus* em salame tipo italiano**. 42 f. 2001. Tese – (Magister Scientiae em Microbiologia Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2001.

PEREIRA, R. S. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 38, n. 2, 2004.

PESSINI, G. L. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizadas na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, supl., p. 21-24, 2003.

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.

SCHMITT, A. C. et al. Avaliação da atividade *in vitro* da planta *Bryophyllum pinnatum* Kurz (“Folha-da-fortuna”) colhida em Várzea Grande, Mato Grosso/Brasil. **Acta Scientiae Veterinarie**, v. 31, n. 1, p. 55-58, 2003.

SOUZA, E. L. Especiarias: uma alternativa para o controle da qualidade sanitária e de vida útil de alimentos, frente às novas perspectivas da indústria alimentícia. **Higiene alimentar**, São Paulo, v.17, n.113, p.38-42, 2003.

SOUZA, G. C. de et al. Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, p. 135-143, 2004.

SOBRE A AUTORA



**Cristiane
Marangoni**

Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela UFSM, Mestre em Ciências Ambientais com ênfase em produtos naturais aplicados em alimentos e graduação em Engenharia Química pela Unochapecó. Sua experiência profissional engloba mais de 6 anos de Pesquisa e Desenvolvimento de produtos cárneos em Cooperativa de Alimentos – Aurora Alimentos, além da docência em cursos de graduação e da publicação de artigos em congressos e revistas especializadas nacionais e internacionais. Atua como revisora do SBCTA, professora nas instituições SENAI–Chapecó, UCEFF –Chapecó e Unochapecó e Pesquisadora e Desenvolvedora de produtos na Aurora Alimentos.

e-mail: eng.cristiane@gmail.com