

Área: Ciência de Alimentos

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE ORÉGANO SOBRE A FLORA CONTAMINANTE DE CARNE MOÍDA

Fabiana Della Betta*, Liziane Schittler, Marlene Gomes Pereira

Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC, Pinhalzinho, SC.

**E-mail: fabianadb@gmail.com*

RESUMO – O efeito antimicrobiano do óleo essencial de orégano (OEO) tem sido amplamente estudado contra vários micro-organismos patogênicos e deteriorantes e tem demonstrado ser uma alternativa para a conservação de alimentos. Foram testadas três concentrações de OEO em uma amostra de carne moída, a fim de verificar sua efetividade contra a flora contaminante presente na carne durante 24 horas de armazenamento refrigerado. Exceto para os coliformes termotolerantes, nenhuma concentração de OEO foi capaz de reduzir significativamente a contaminação presente inicialmente na carne, porém pode-se dizer que OEO associado à refrigeração resultou em um efeito bacteriostático, pois não houve aumento significativo nas contagens dos micro-organismos alvo durante o período estudado.

Palavras-chave: óleo essencial de orégano, antimicrobiano, contaminantes.

1 INTRODUÇÃO

A carne bovina in natura é um alimento altamente perecível, pois sua composição proporciona condições favoráveis ao desenvolvimento de um amplo espectro de micro-organismos (JAY, 2005). Uma das formas mais comuns de apresentação deste produto é a carne moída, a qual é definida pela legislação brasileira como sendo o produto cárneo obtido a partir da moagem de massas musculares de carcaças de bovinos, seguido de imediato resfriamento ou congelamento (BRASIL, 2003). O consumo elevado se justifica pelo menor custo comparado a outros cortes bovinos e à facilidade de preparo, porém é um produto que contém altos níveis de contaminação microbiana, pois sua maior superfície de contato favorece o crescimento de bactérias aeróbias, principalmente a flora deteriorante quando mantidos a baixa temperatura (JAY, 2005).

Segundo Jay (2005) a carne moída é deteriorada exclusivamente por bactérias, principalmente as do gênero *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Moraxella* e *Aeromonas*, entre os micro-organismos patogênicos comumente isolados em carnes e associados a surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) destacam-se a *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*. Uma vez que

a refrigeração é a única forma de conservação empregada em produtos como a carne moída, diferentes espécies deteriorantes e patogênicas podem colonizar a superfície da carne, entre elas bactérias mesófilas e psicrotróficas, cuja prevalência depende da temperatura de armazenagem do produto. Neste contexto o uso de ingredientes antimicrobianos poderia ser uma ferramenta de controle microbiano em associação a refrigeração.

Diversos estudos têm sido desenvolvidos explorando as propriedades antimicrobianas do óleo essencial de orégano (OEO) contra micro-organismos patogênicos e deteriorantes, principalmente em estudos *in vitro*, sendo ainda limitados os estudos em matrizes alimentares. Evidências mostram que a quantidade de óleo essencial (OE) aplicada em alimentos, deve ser maior para se obter o mesmo efeito antimicrobiano dos testes *in vitro*, devido a maior complexidade da matriz alimentar (BARBOSA et al., 2009; CRUZ-GALVEZ et al., 2013). O efeito antimicrobiano é geralmente reduzido, pois a presença de carboidratos, lipídios, proteínas, sais e o pH do alimento influenciam a efetividade dos OE (BUSATA et al., 2008), outros estudos indicam ainda que a gordura e as proteínas, presentes nos alimentos, podem imobilizar os compostos com atividade antimicrobiana e até proteger os micro-organismos, reduzindo assim a efetividade dos antimicrobianos (BURT, 2004; SINGH, et al., 2003).

Segundo a legislação brasileira RDC 12, de 2 de janeiro de 2001, o único padrão microbiológico considerado para carne moída é ausência de *Salmonella sp.* em 25 gramas, porém muitos patógenos e deteriorantes podem ser encontrados na carne e expor ao risco o consumidor, por isso o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito antimicrobiano do óleo essencial de orégano sobre alguns micro-organismos da flora contaminante da carne moída, aeróbios mesófilos e psicrotróficos, coliformes termotolerantes e *Staphylococcus aureus* durante 24 horas de armazenamento refrigerado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Óleo essencial de orégano

O óleo essencial de orégano foi fornecido pela empresa Ventós do Brasil Ltda (São Paulo, Brasil) e as concentrações testadas foram 0,0, 0,5, 1,0 e 2,0% (v/v), valores estes definidos com base em testes *in vitro* realizados preliminarmente.

2.2 Tratamentos

Foram definidos cinco tratamentos: T1 (controle negativo, sem adição de OEO); T2 (adição de 0,5% de OEO); T3 (adição de 1,0% de OEO); T4 (adição de 2,0% de OEO). Para o preparo dos tratamentos em sacos estéreis pesaram-se quatro porções de 100 gramas de carne moída adquirida no mercado local, adicionou-se o OEO nas concentrações estabelecidas e para promover melhor contato entre o óleo essencial e a carne adicionou-se de 1% de *Tween 80* (DINÂMICA, Diadema, SP). As amostras foram homogêneas em *Stomacher* (Logen Scientific) por 1 minuto e mantidas refrigeradas a temperatura de $7 \pm 2^\circ\text{C}$. Todos os tratamentos foram realizados em duplicata.

2.3 Contagem de Aeróbios Mesófilos e Psicrotróficos,

A fim de verificar a influencia do OEO nos diferentes tratamentos foram feitas contagens de mesófilos e psicrotróficos nos tempos de 0, 6, 12 e 24 horas. Foram inoculadas 0,1 mL das diluições apropriadas dos tratamentos na superfície do ágar PCA e incubadas a 35 ± 1 °C e 7 ± 2 °C por 48 horas e 10 dias, respectivamente. As colônias foram contadas e os resultados expressos em log UFC/g, conforme preconiza o *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (APHA, 1992) descrita por Silva (2007).

2.4 Número Mais Provável de Coliformes Termotolerantes

Foram inoculadas 1 mL de três diluições dos tratamentos em três séries de três tubos contendo caldo Lauril Sulfato Triptose (LST). Os tubos foram incubados a 35 ± 1 °C por 48 horas. Tubos com produção de gás foram confirmados a presença de coliformes termotolerantes transferindo uma alçada para caldo E. coli (EC) e incubado em banho-maria a $45,5 \pm 1$ °C por 48 horas. Foram considerados positivos os tubos que apresentaram formação de gás. Os resultados foram expressos em Número Mais Provável por grama (NMP/g), conforme preconiza o *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (APHA, 1992) descrita por Silva (2007).

2.5 Contagem de *Staphylococcus aureus*

Para a contagem de *Staphylococcus aureus*, 0,1 mL das diluições apropriadas foram plaqueadas em ágar Baird-Parker e incubadas a 35 ± 1 °C por 48 horas. Contaram-se as colônias típicas, circulares, pretas ou cinza escuras com presença de halo. Para confirmação foi realizado teste de coagulase e catalase, conforme preconiza o *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (APHA, 1992) descrita por Silva (2007).

2.6 Análise estatística

Os resultados experimentais foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) e os dados da ANOVA foram submetidos ao Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, através do software Assistat 7.6 Beta.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

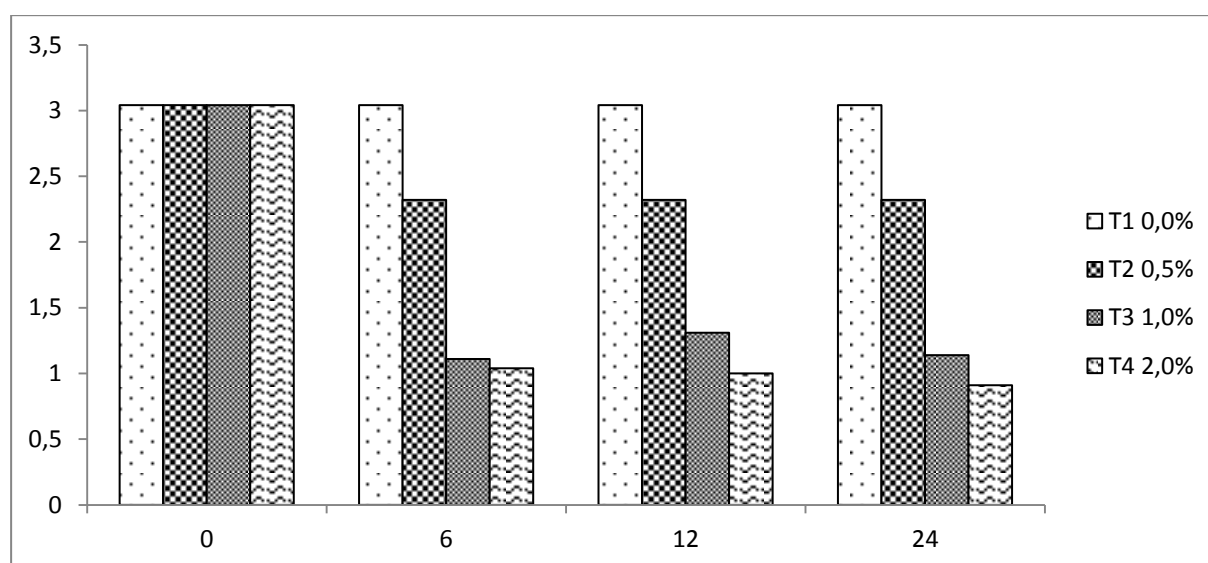
As amostras de carne moída de bovino adquiridas no comércio local apresentaram elevadas contagens de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus*, mesófilos e psicrotróficos, o que demonstra condições higiênico-sanitárias insatisfatórias (Tabela 1).

Tabela 1. Contagens de micro-organismos contaminantes presentes inicialmente nas amostras de carne moída.

Coliformes termotolerantes (Log NMP/mL)	<i>Staphylococcus aureus</i> (Log de UFC/g)	Aeróbios Mesófilos (Log de UFC/g)	Aeróbios Psicrotróficos (Log de UFC/g)
3,04 ± 0,0	3,93 ± 0,18	5,25 ± 0,1	5,62 ± 0,21

Os tratamentos contendo 1,0 e 2,0% do antimicrobiano possibilitaram importante inibição de coliformes termotolerantes, em relação aos demais tratamentos, reduzindo após as 24 horas a contagem inicial superior a 3,04 Log NMP/mL até 1,14 e 0,91 Log NMP/g respectivamente, e estes não diferem entre si ($p < 0,05$). A concentração de 0,5% possibilitou uma redução parcial nas contagens, diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) dos demais tratamentos (Figura 1).

Figura 1. Contagens de coliformes termotolerantes em carne moída adicionada de OEO, durante 24 horas de armazenamento refrigerado.

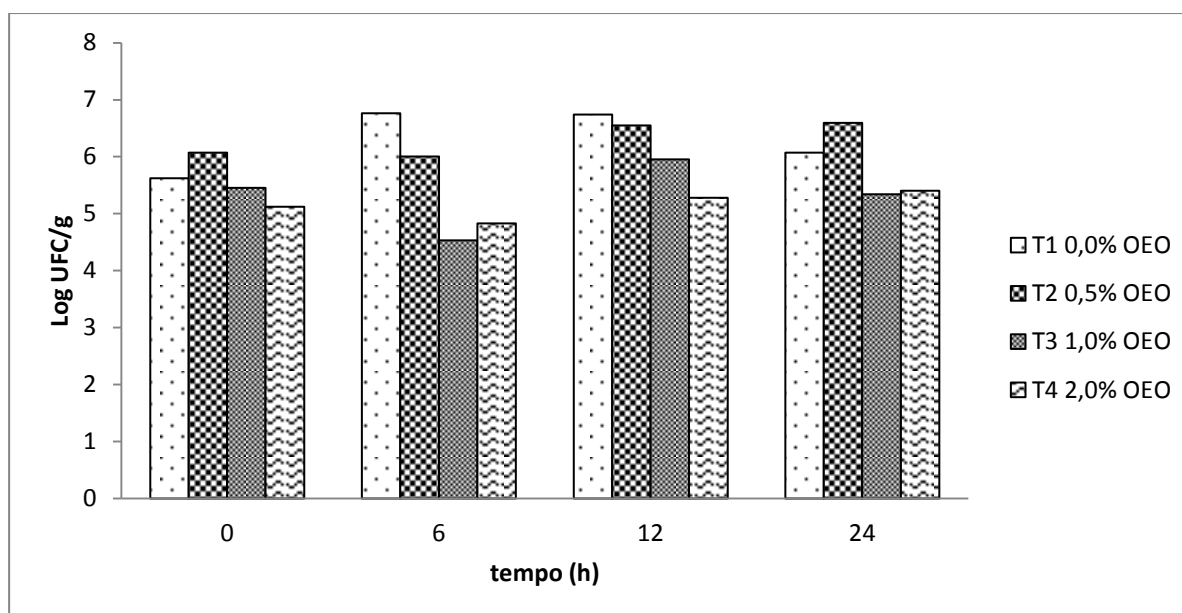


As contagens para *S. aureus* em no tempo zero foram elevadas, algo indesejável já que este patógeno é capaz de causar intoxicação alimentar. Nenhuma das concentrações testadas reduziu as contagens iniciais de deste micro-organismo, mas pode-se dizer que o óleo essencial apresentou efeito bacteriostático, pois as contagens obtidas após as 24 horas de experimento não diferem estatisticamente das contagens obtidas para o tempo zero ($p > 0,05$).

As contagens de aeróbios mesófilos em Log de UFC/g durante as 24 horas de armazenamento variaram de 5,0 a 6,54 Log UFC/g e não diferiram entre si ($p < 0,05$), ou seja, o OE testado não foi capaz de diminuir a contaminação da carne, porém associado a refrigeração exerceu efeito bacteriostático, impedindo o aumento das contagens iniciais de mesófilos. As contagens de aeróbios psicrotróficos em Log de UFC/g durante as 24 horas

de armazenamento variaram de 4,53 a 6,76 Log UFC/g entre os quatro tratamentos (Figura 2). Nas amostras adicionadas de 1,0 e 2,0% de OEO após 24 horas houve redução de 1 ciclo logarítmico em relação ao tratamento não adicionado de OE (T1), e assim como para os micro-organismos mesófilos, a associação entre refrigeração e a adição de OEO apresentou efeito bacteriostático. Resultados semelhantes foram obtidos por Barbosa e colaboradores (2009) em um estudo em carne moída.

Figura 2. Contagens de aeróbios psicrotróficos em carne moída adicionada de OEO, durante 24 horas de armazenamento refrigerado.



Exceto para coliformes termotolerantes que houve efetiva inibição, a adição de OEO contra os demais micro-organismos testados exerceu apenas efeito bacteriostático, o que poderia indicar a necessidade de adição de maiores concentrações do OE, porém a adição de óleos essenciais ainda tem sido bastante discutida por afetar as características organolépticas do produto, o que poderia prejudicar sua aceitação pelo consumidor.

4 CONCLUSÃO

O OEO permitiu importante inibição contra coliformes termotolerantes na carne moída após 4 horas. Porém nenhuma das concentrações testadas foi capaz de diminuir significativamente as contagens iniciais de aeróbios mesófilos, psicrotróficos e *Staphylococcus aureus*, mas pode-se concluir que a adição de OEO associado à refrigeração permitiu que as contagens não aumentassem nas 24 horas do estudo.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a UDESC e ao CNPQ pelo apoio financeiro.

6 REFERÊNCIAS

Barbosa, L. N., Rall, V. L. M., Fernandes, A. A. H., Ushimaru, P. I., Probst, I. S., Fernandes Jr., A. Essential oils against foodborne pathogens and spoilage bacteria in minced meat. **Foodborne pathogens and disease**, v. 6, n. 6, 725-728, 2009.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC 12, de 02 de janeiro de 2001**. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução normativa n. 83, de 21 de novembro de 2003**. Aprova o Regulamento técnico de identidade e qualidade de carne moída de bovino. Brasília, DF, 21 nov. 2003.

Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, 223-253, 2004.

Busatta, C., Vidal, R. S., Popiolski, A. S., Mossi, A. J., Dariva, V., Rodrigues, M. R. A., Corazza, F. C., Corazza, M. L., Oliveira, J. V., Cansian, R. L. Application of *Origanum majorana* L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage. **Food Microbiology**, v. 25, 207–211, 2008.

Cruz-Galvez, A. M., Gómez-Aldapa, C. A., Villagómez-Ibarra, J. R., Chavarría-Hernández, N.; Rodríguez-Baños, J., Rangel-Vargas, E., Castro-Rosas, J. Antibacterial effect against foodborne bacteria of plants used in traditional medicine in central Mexico: Studies in vitro and in raw beef. **Food Control**, v. 32, 289-295, 2013.

JAY, J. M. Microbiologia de alimentos. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

Silva, N. da. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 536 p.

Singh, A., Singh, R. K., Bhunia, A. K., Singh, N. Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against *Listeria monocytogenes* in hotdogs. **LWT - Food Science and Technology**, v.36, p. 787–794, 2003.