

AVALIAÇÃO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE ÓLEO ESSENCIAL DE OREGANO (*Origanum vulgare*) EM RICOTAS ADICIONADAS DE ESPECIARIAS

C. PREIS¹, T.E.R. CHAGAS¹, E. RIGO¹

¹Universidade do Estado de Santa Catarina, Departamento de Engenharia de Alimentos
carinepreis@yahoo.com.br

RESUMO – A cada dia cresce o número de consumidores que tem exigido da indústria de alimentos, a adoção de uma política com intuito de diminuir o uso de aditivos químicos pelos considerados naturais, para obtenção de alimentos seguros. Assim, muitas especiarias e seus derivados vêm sendo indicados e aplicados em alimentos para produzir sabor e aromas diferenciados, além do uso como antimicrobianos naturais, que possam apresentar uma nova forma de garantir a qualidade microbiológica dos alimentos. Desta forma, este estudo teve como finalidade elaborar ricotas com diferentes concentrações de óleo essencial de orégano (OEO) e de especiarias de acordo com um planejamento experimental fatorial completo, buscando avaliar o efeito destes frente a micro-organismos indicadores de contaminação e deteriorantes, durante a vida de prateleira do produto assim como, o acompanhamento das características físico-químicas das formulações. Os resultados das análises microbiológicas demonstraram eficácia do óleo essencial de orégano em inibir o crescimento microbiano, principalmente de bolores e leveduras nas ricotas elaboradas com óleo essencial e especiarias, quando comparadas a formulação da ricota padrão (sem adição de óleo essencial e especiarias). Nas análises físico-químicas os teores de proteína, cinzas e gordura das formulações desenvolvidas foram menores em comparação a formulação padrão.

1. INTRODUÇÃO

Os consumidores têm exigido da indústria de alimentos, a adoção de uma política decrescente de uso de aditivos químicos para obtenção de alimentos seguros, pelo retardo das ações microbianas de caráter deteriorante que conduzem o alimento a um estado impróprio para o consumo. Também, seguindo esta tendência e tomando como base a toxicidade ou suspeita toxicidade de alguns aditivos químicos aos consumidores e o abuso de utilização destes compostos, os aspectos legislativos da produção de alimentos têm demandado uma diminuição nos índices de utilização de aditivos químicos na indústria de alimentos. Sendo assim muitas pesquisas vem sendo desenvolvidas enfatizando a busca de compostos alternativos úteis e viáveis para um emprego racional como conservantes naturais na produção de alimentos (SOUZA *et al*, 2005).

A literatura na área da ciência e tecnologia de alimentos tem mostrado, nos últimos anos, um enfoque no estudo do potencial antimicrobiano das especiarias considerando a sua inclusão nos chamados sistemas de bioconservação de alimentos. A bioconservação de

alimentos é um sistema de preservação amplamente aceito, sendo referido como um procedimento natural capaz de prover a extensão da vida útil e satisfatória segurança microbiológica de alimentos (TRAJANO *et al.*, 2009).

Magalhães *et al* (2011) em estudo da atividade antimicrobiana de sete óleos essenciais (cravo, coentro, funcho doce, manjerona, memaleuca, noz moscada e orégano) observaram que o óleo essencial (OE) de orégano o que apresentou maior eficiência na inibição de *Salmonella choleraesuis*. O óleo essencial de orégano (*O. vulgare*) também foi efetivo na atividade antimicrobiana estudada sobre a bactéria *Listeria monocytogenes* (SALIMENA *et al*, 2010). Em filmes incorporados com OE de orégano, Soares *et al* (2008) obtiveram bons resultados, tendo ocorrido total inibição do crescimento de *Listeria innocua* quando espostas na presença desses filmes.

O soro lácteo é a matéria prima para elaboração da ricota e pode ser adicionado de leite integral, leite desnatado e até mesmo creme de leite, dependendo do produto final a ser elaborado, carreando os constituintes do leite no decorrer do processo de produção queijeira, divulgados e recomendados por nutricionistas, principalmente pela distinta e elevada digestibilidade, superior a todos os queijos e sua grande virtude (SANTOS e HOFFMANN, 2010).

No Brasil a ricota é produzida usando-se soro e assim, também conhecida por queijo albumina, pois esta é uma proteína do soro presente em grande quantidade na ricota já que, não é precipitada pela ação das enzimas na elaboração do queijo. O princípio de fabricação de ricota é baseado na precipitação das proteínas do soro por meio de calor associado à acidificação (ALBUQUERQUE, 2002).

A população microbiana contaminante em queijos frescos como a ricota podem incluir micro-organismos pertencentes ao grupo dos coliformes, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* (SANTOS *et al*, 2008). Assim, as ricotas podem ser fonte de toxinfecções alimentares apresentando risco a saúde pública (BRUGNERA, 2011), necessitando, portanto, de grande atenção e cuidados higiênicos sanitários durante sua elaboração, além do uso de conservantes que possam auxiliar no processo de segurança do alimento.

Neste sentido, este estudo teve como finalidade elaborar ricotas com diferentes concentrações de óleo essencial de orégano (OEO) e de especiarias de acordo com um planejamento experimental fatorial completo, buscando avaliar o efeito destas frente a micro-organismos indicadores de contaminação e deteriorantes, durante a vida de prateleira do produto assim como, o acompanhamento das características físico-químicas das formulações.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A elaboração das formulações de ricota foi realizada em um Laticínio no Oeste de Santa Catarina e as análises físico-químicas e microbiológicas nos laboratórios do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC - Campus de Pinhalzinho, SC.

2.1. Elaboração da Ricota

A formulação base da ricota (Figura 1) foi desenvolvida de acordo com os padrões de fabricação já existentes do laticínio, no qual foram adicionados o óleo essencial de orégano (Laszlo) e as especiarias (ISP do Brasil).

As especiarias foram pesadas, conforme cada formulação, e adicionadas em erlenmeyer com 350 mL de água destilada. Após foi levado à aquecimento (100°C) durante 5 minutos visando sua esterilização. O óleo essencial de orégano concentrado foi diluído em óleo de coco na proporção de 3% e este usado como solução padrão nas concentrações definidas no planejamento experimental.

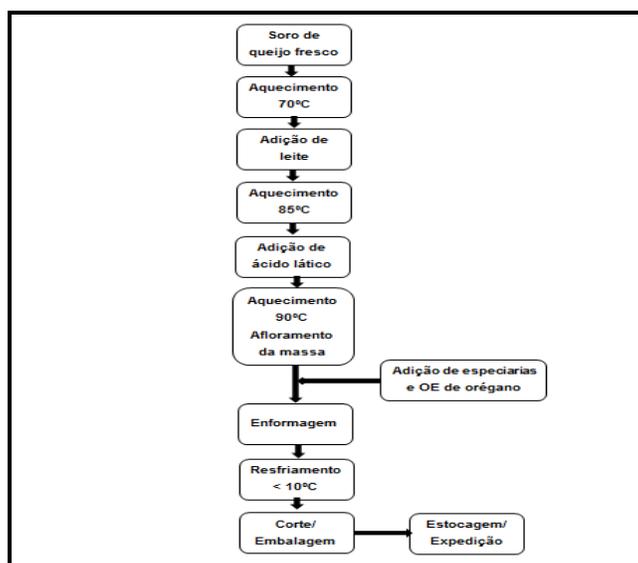


Figura 1 – Fluxograma de produção da ricota com adição de especiarias e óleo essencial de orégano.

As formulações das ricotas foram definidas segundo planejamento experimental fatorial completo, buscando verificar o efeito das concentrações de óleo essencial de orégano e de especiarias (condimento preparado de ervas finas composto por amido de milho, realçador de sabor glutamato monossódico, sal, manjerição flocos, funcho (semente moídas), orégano desidratado pó/moído, pimenta preta moída, pimenta branca moída, cebola desidratada em pó, louro em pó, coentro moído/pó, açúcar, vegetais desidratados e corante natural cúrcuma), com faixa de estudo indicada na Tabela 1.

Tabela 1 – Definição dos níveis das variáveis no planejamento experimental fatorial completo DCCR 2² para a avaliação da ação antimicrobiana das especiarias e do óleo essencial de orégano adicionadas nas ricotas

Variáveis	Níveis		
	-1	0	+1
Especiarias (%)	0,100	0,600	1,100
Óleo essencial de orégano (%)	0,002	0,010	0,018

Uma formulação padrão de ricota, ou seja, sem adição de óleo essencial e de especiarias foi produzida, visando à comparação com as formulações desenvolvidas segundo o planejamento experimental.

Após a enformagem a massa foi conduzida para câmara fria com temperatura máxima de 10°C e mantida durante 6 horas. Posteriormente realizou-se o corte onde o peso médio das ricotas ficou em 300 gramas. As ricotas foram embaladas a vácuo em embalagens de plástico polietileno (polietileno PE e copolímero de poliamida PA). Todas as ricotas foram codificadas com data de fabricação, validade e lote. Sendo que o último algarismo de cada lote foi identificado pelos números 1 à 7 indicando a formulação correspondente do planejamento de experimentos e a 8 da formulação padrão (sem adição OEO e especiaria)

Depois de embaladas, as ricotas foram acondicionadas em caixas de papelão e mantidas em câmara de estocagem com temperatura máxima de 8°C durante o período de 30 dias, tempo de validade do produto, sendo retiradas unidades de ricotas nos tempos de 0, 15 e 30 dias para as análises definidas na pesquisa.

2.2. Análises Microbiológicas

As ricotas foram submetidas a análises microbiológicas. Estas análises foram realizadas segundo Silva *et al.*, (2001) e Nova (2011): contagem total de aeróbios mesófilos; contagem de bolores e leveduras; contagem de coliformes totais; contagem de *Staphylococcus aureus* e pesquisa de *Salmonella sp.*

Todas as análises foram realizadas no tempo inicial da produção, sendo que a contagem padrão em placas e contagem de bolores e leveduras seguiram sendo avaliadas também nos tempos de 15 e 30 dias de armazenamento.

2.3. Análises Físico-químicas

As seguintes análises físico-químicas segundo Instituto Adolfo Lutz (2004) e Castanheira (2012) foram realizadas nas ricotas: umidade, determinação de lipídeos, pH, cinzas e proteína.

2.4. Análise Estatística

As análises estatísticas foram desenvolvidas no software STATISTICA® 12. As médias dos dados dos resultados das análises foram aplicadas em Análises de Variância Simples (ANOVA) para verificar a influência das variáveis independentes na atividade antimicrobiana e características físico-químicas das ricotas formuladas, com nível de significância de $p \leq 0,05\%$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Análises Microbiológicas

Na Tabela 2 são apresentados os resultados das análises microbiológicas de cada formulação desenvolvida de acordo com o planejamento fatorial 2^2 (4 ensaios mais os 3

centrais), bem como a formulação padrão (8), em relação à contagem padrão de microrganismos aeróbios mesófilos e bolores e leveduras, de acordo com a matriz definida na Tabela 3. Os resultados das análises microbiológicas demonstraram eficácia do óleo essencial de orégano em inibir o crescimento microbiano nas ricotas elaboradas com óleo essencial e especiarias, quando comparadas a formulação 8, sem adição de OEO e especiarias.

Tabela 2 – Resultados microbiológicos para PCA, bolores e leveduras das ricotas adicionadas de especiarias e óleo essencial de orégano no decorrer do tempo de vida de prateleira

Formulações	Contagem Total (UFC*g ⁻¹)			Bolores e Leveduras (UFC*g ⁻¹)		
	0	15	30	0	15	30
1	1,0*10 ¹	<1,0*10 ¹	<1,0*10 ¹	<1,0*10 ¹	2,4*10 ³	2,1*10 ³
2	<1,0*10 ¹	<1,0*10 ¹	<1,0*10 ¹	3,6*10 ²	4,1*10 ²	1,1*10 ³
3	1,0*10 ¹	<1,0*10 ¹	<1,0*10 ¹	1,0*10 ¹	4,0*10 ²	1,7*10 ³
4	<1,0*10 ¹	<1,0*10 ¹	<1,0*10 ¹	1,0*10 ²	1,1*10 ²	1,4*10 ³
5	<1,0*10 ¹	1,0*10 ²	1,0*10 ²	1,0*10 ²	3,0*10 ²	7,4*10 ²
6	<1,0*10 ¹	7,0*10 ²	7,0*10 ²	<1,0*10 ¹	7,0*10 ²	1,6*10 ³
7	1,4*10 ⁴	1,0*10 ²	1,0*10 ²	9,0*10 ³	3,4*10 ²	3,4*10 ²
8	3,6*10 ¹	1,3*10 ⁴	1,3*10 ⁴	<1,0*10 ¹	7,4*10 ²	8,8*10 ²

Nas quatro formulações do planejamento experimental e no ponto central (formulação 5, 6 e 7), bem como na ricota padrão (8 sem adição de especiarias e óleo essencial) não houve crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella sp.* Segundo Brugnera (2011) em seus estudos obteve uma inibição crescente de *Staphylococcus aureus* de acordo com o aumento da concentração de óleo essencial de orégano utilizado. Santos et al (2011) em suas pesquisas utilizando quatro óleos essenciais (alho, cravo botões, orégano e casca de limão) relataram que as cepas de *S. aureus* utilizadas no estudo foram mais susceptíveis frente aos óleos essenciais de cravo, alho e orégano.

Nos ensaios 3 e 4 adicionados com a maior concentração de óleo (0,018%) não houve contagem total de bactérias até os 30 dias de estocagem. A ricota padrão, sem adição de óleo essencial e especiarias apresentou maior crescimento microbiano, sendo que ao final dos 30 dias de estocagem, chegou a uma contagem padrão de microrganismos aeróbios mesófilos de 1,3*10⁴ UFC*g⁻¹.

Os ensaios do ponto central (5, 6 e 7) apresentaram os melhores resultados de inibição para contagem de bolores e leveduras quando comparados com a ricota padrão, sem adição de especiarias e óleo essencial. Nestes ensaios foram utilizados concentrações de 0,60% de especiarias e 0,010% de OE de orégano.

Para coliformes totais todas as formulações adicionadas de óleo essencial e especiarias indicaram contagem <0,3 NMP/100g. Já a ricota sem adição de especiarias e OEO apresentou contagem de 2,3 NMP/100g. Silva et al (2014) observaram que a ricota adicionada com orégano obteve uma prolongamento da vida de prateleira em torno de 83% em relação a ricota natural e a ricota adicionada de pimenta calabresa nas análises referentes a coliformes a 45°C.

3.2. Análises Físico-químicas

As análises de cinzas, lipídios, umidade, pH e proteína foram determinadas para todas as formulações de ricotas: 1, 2, 3, 4 e ponto central (5, 6 e 7) bem como, para a ricota padrão (8 sem adição de especiarias e OE de orégano), sendo os resultados apresentados na Tabela 3. Cabe ressaltar que a formulação padrão não foi analisada estatisticamente, somente as pertencentes ao planejamento experimental.

Tabela 3 - Matriz do planejamento experimental fatorial completo 2² com as variáveis reais e codificadas e os resultados de cinzas (C), lipídios (LP), umidade (U), pH e proteínas (PT) das formulações de ricota adicionadas de especiarias e óleo essencial de orégano.

Formu- lações	Variáveis Independentes		Variáveis Dependentes				
	Especiarias (%)	OEO (%)	C (%)	LP (%)	U (%)	PT (%)	pH
1	0,100 (-1)	0,002 (-1)	1,44±0,05	10,25±0,35	72,83±0,06	13,65±0,02	5,78
2	1,100 (+1)	0,002 (-1)	1,23±0,06	10,25±0,35	72,29±0,13	12,48±0,02	5,82
3	0,100 (-1)	0,018 (+1)	1,27±0,02	10,50±0,70	69,71±0,09	13,86±0,02	5,74
4	1,100 (+1)	0,018 (+1)	1,06±0,03	10,50±0,70	72,94±0,23	12,67±0,02	5,76
5	0,600 (0)	0,010 (0)	1,33±0,01	10,50±0,70	73,69±0,05	12,49±0,02	5,79
6	0,600 (0)	0,010 (0)	1,13±0,03	10,50±0,00	71,79±0,05	12,64±0,02	5,73
7	0,600 (0)	0,010 (0)	1,01±0,01	10,00±0,00	74,29±0,10	12,02±0,02	5,80
8	Sem adição		1,72±0,07	11,75±0,35	68,96±0,02	14,81±0,02	5,67

Os teores de cinzas, de lipídios e proteína na formulação padrão foram maiores em comparação as formulações adicionadas de OEO e especiarias. Já o teor de umidade foi menor na formulação padrão frente às demais formulações. Este fato deve estar relacionado com a adição das especiarias úmidas.

Assim, buscando verificar a influência da concentração das especiarias e do óleo essencial de orégano, de acordo com as condições estipuladas no planejamento experimental (Tabela 1), realizou-se a análise estatística dos resultados de cinzas, lipídios, umidade, pH e proteína. A análise indicou não haver diferença significativa a nível de 95% de confiança dos valores das análises físico-químicos entre as formulações apresentados na Tabela 3, o que pode estar relacionado a padronização industrial das bateladas de ricotas elaboradas, bem como o fato de que as especiarias e o óleo essencial não apresentam efeito sobre a composição centesimal do produto.

Resultados diferentes foram relatados por Santos et al (2012) avaliando a concentração de compostos fenólicos em extratos alcoólicos de *Origanum vulgare* e *Rosmarinus officinalis* L. e sua ação antioxidante em queijo ricota, observaram que nas formulações desenvolvidas houve diferenças significativas para os teores de proteína, extrato seco total, cinza, gordura, carboidratos. Porém ressalta-se que as concentrações utilizadas foram superiores ao que foi usada no presente trabalho.

Contudo, no Brasil não existe um Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade para a ricota. A única legislação é o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal que no artigo 610 define ricota fresca, o produto obtido da albumina de soro de queijos, adicionado de leite até 20% (vinte por cento) do seu volume, tratado convenientemente e tendo o máximo de 3 (três) dias de fabricação (BRASIL, 1952).

Neste sentido todas as formulações das ricotas desenvolvidas neste estudo, bem como a ricota padrão apresentaram os valores de umidade (66-77%), lipídios (9-12%) e pH (5,2-6,4%) dentro dos padrões seguidos pela empresa onde foi realizada a fabricação da ricota a qual possui Inspeção Federal pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA).

É importante destacar que a adição de óleo essencial não interferiu na composição das ricotas tornando-se uma informação importante, considerando que desta forma o produto estaria dentro os padrões de qualidade indicados pela legislação para este produto lácteo, possibilitando o uso deste antimicrobiano sem implicações na sua composição.

4. CONCLUSÃO

Foi possível observar que as diferentes formulações de ricotas apresentaram valores de coliformes totais, bolores e leveduras, contagem padrão de microrganismos aeróbios mesófilos, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella sp.* em acordo com a legislação. Em relação às características físico-químicas, não houve diferença significativa das formulações quando comparadas com a ricota padrão, indicando que a adição de óleo essencial e especiarias não influenciaram na composição das ricotas.

A pesquisa de adição de óleo essencial de orégano e especiarias mostrou-se uma alternativa promissora no controle da multiplicação microbiana na ricota adicionada de especiarias.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, L. C. *Queijos no mundo: origem e tecnologia*. 1. ed, Juiz de Fora: [s.n], 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952. *Diário oficial da República Federativa do Brasil*, Distrito Federal. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 21 mar. 2014

BRUGNERA, D. F. Ricota: qualidade microbiológica e uso de especiarias no controle de *Staphylococcus aureus*. 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, *Universidade Federal de Lavras*, Lavras.

CASTANHEIRA, A. C. G. *Controle de qualidade de leite e derivados*. n. 2, São Paulo: Cap Lab, 2012.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. 4. ed, Brasília: Instituto Adolfo Lutz, 2004.

MAGALHÃES, R. M. F.; GERALDINE, R. M.; SILVEIRA, M. F. A.; TORRES, M. C. L. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais sobre microrganismos veiculados por alimentos. In: *REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA*, 63, 2011, Goiânia. Anais... Goiânia: SBPC, 2011. Disponível em: <<http://www.sbpnet.org.br>>. Acesso em: 19 mar. 2014.

NOVA legislação comentada de produtos lácteos. n. 3, São Paulo: Setembro, 2011.

PICCOLI, R. H. Atividade antimicrobiana de diferentes concentrações de óleos essenciais sobre *Listeria monocytogenes*. In: *CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA*

UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS, 19, 2010, Lavras. Resumo... Lavras: SBPC, 2010. Disponível em: < <http://www.sbpcnet.org.br>>. Acesso em: 12 mar. 2014.

SALIMENA, A. P. S.; SANTOS JÚNIOR, A. C.; ROSSONI, D. F.; CARDOSO, M. G.; SANTOS, J. C.; CARVALHO FILHO, C. D.; BARROS, T. F.; GUIMARÃES, A. G. Atividade antimicrobiana in vitro dos óleos essenciais de orégano, alho, cravo e limão sobre bactérias patogênicas isoladas de vôngole. *Ciências Agrárias*, Londrina, v. 32, n. 4, p. 1557-1564, 2011.

SANTOS, R. D.; SHETTY, K.; CECCHINI, A. L.; MIGLIORANZA, L. H. S. Phenolic compounds and total antioxidant activity determination in Rosemary and orégano extracts and its use cheese spread. *Ciências Agrárias*, Londrina, v. 33, n. 2, p. 655-666, 2012.

SANTOS, V. A. Q.; CARVALHO, C. C. P.; GONÇALVES, T. M. V.; HOFFMANN, F. L. Controle microbiano em linha de produção de queijos Minas Frescal e Ricota. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, Lisboa, v. 103, n. 567-568, p. 219-227, 2008.

SANTOS, V. A. Q.; HOFFMANN, F. L. Evolução da microbiota contaminante em linha de processamento de queijos Minas Frescal e Ricota. *Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 69, n. 1, p. 38-46, 2010.

SILVA, E. A.; SANTOS, E. A. L.; AQUINO, A. B.; ARAUJO, J. M.; DIAS, S. S.; LIMA, J. S.; MACHADO, J. A.; SANTANA, L. C. L. A. Processamento de ricota natural e condimentada: avaliação microbiológica e sensorial. *Gestão, Inovação e Tecnologias*, São Cristóvão, v. 4, n. 2, p. 788-795, 2014.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos*. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001.

SOARES, N. F. F.; SILVA, P. S.; SILVA, W. A. Desenvolvimento e avaliação de filme ativo incorporado com óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare L.*) com crescimento de *Listeria innocua* em queijo Minas Frescal. *Instituto Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 63, n. 365, p. 36-40, 2008.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N.; BARBOSA FILHO, J. M. Orégano (*Origanum vulgare L.*, Lamiaceae): uma especiaria como potencial fonte de compostos antimicrobianos. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 19, n.132, p. 40-45, 2005.

TRAJANO, V. N.; LIMA, E. O.; SOUZA, E. L.; TRAVASSOS, A. E. R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 29, n. 3, p. 542-545, 2009.