



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS

**USO DO AÇAFRÃO (*Curcuma longa* L.) NA
REDUÇÃO DE *Staphylococcus aureus* ATCC
12600 EM RICOTA**

ANA CRISTINA FERREIRA

2003

CIRCULAÇÃO E EMPRÉSTI
DATA DE DEVOLUÇÃO

T576.163

OP 7

55564

MPN047423

ANA CRISTINA FERREIRA

**USO DO AÇAFRÃO (*Curcuma longa* L.) NA REDUÇÃO DE
Staphylococcus aureus ATCC 12600 EM RICOTA**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2003**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Ferreira, Ana Cristina

Uso do açafrão (*Curcuma longa* L.) na redução de *Staphylococcus aureus* 12600 em ricota / Ana Cristina Ferreira. -- Lavras : UFLA, 2003.

76 p. : il.

Orientador: Luiz Ronaldo de Abreu.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Açafrão. 2. *Curcuma longa*. 3. Redução. 4. *Staphylococcus aureus*.
5. Ricota. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 576.163

- 637.353

ANA CRISTINA FERREIRA

**USO DO AÇAFRÃO (*Curcuma longa* L.) NA REDUÇÃO DE
Staphylococcus aureus 12600 EM RICOTA**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciência dos Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

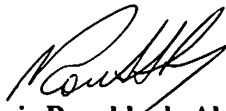
APROVADA em 27 de fevereiro de 2003

Prof. Dr. Celso José de Moura

UFG

Dra. Daise Aparecida Rossi

UFU



Prof. Dr. Luiz Ronaldo de Abreu
UFLA
(Orientador)

**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL**

Aceitei o meu caminho com todas as suas
muitas curvas e sinuosidades e percebi que a
aventura realmente está na jornada e não no
final da viagem.

A Deus.

À minha mãe, Angela Maria Ferreira.

Ao meu irmão, Marco Antonio.

A toda a minha família.

À minha filha, que está para nascer.

Ao meu marido, Márcio, companheiro de todas as horas.

Pelo amor, carinho e incentivo em todos os momentos.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Ciência dos Alimentos (DCA), pela oportunidade de realização deste curso.

À Escola Agrotécnica Federal de Inconfidentes, pela oportunidade e apoio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro para a realização deste trabalho.

À Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, pela oportunidade de desenvolver o presente trabalho dentro do projeto “Estabelecimento de tecnologia para o fortalecimento do agronegócio do açafreão (*Curcuma longa* L.)” em Mara Rosa/Goiás, financiado pelo CNPq.

Ao Professor Luiz Ronaldo de Abreu, pela orientação e dedicação e, principalmente, pelos ensinamentos e convívio durante estes dois anos.

Ao professor Celso José de Moura, pela orientação, confiança no meu trabalho e sua grande amizade.

À Professora Henriqueta Merçon Vieira Rolim, da Universidade Federal de Goiás, pela oportunidade de realização deste trabalho.

Ao Professor Gabriel Vilas Boas, pelo apoio e incentivo durante todo o curso.

À professora Roberta do DCA-UFLA, pela atenção e amizade.

A todos os professores do Departamento de Ciência de Alimentos, pelos ensinamentos e convívio.

À professora Daise Aparecida Rossi, da Universidade Federal de Uberlândia, pela atenção e colaboração.

Ao meu assistente e grande amigo Joel, por sua ajuda valiosa e impecável.

Aos meus alunos, Thiago, Fernanda, Gicele, Juscilene e Hélder pela colaboração valiosa.

Ao meu amigo Éder, pela ajuda tantas vezes prestada.

Aos funcionários e amigos da Escola Agrotécnica Federal de Inconfidentes, André e Jackson, pelo valioso auxílio.

Agradeço o valioso auxílio da amiga Cleusa, funcionária do Laboratório de Laticínios da UFLA.

Aos amigos Alessandra, Gracinha, Evânia, Alan, Antônio Carlos e Fernando, pelo apoio e amizade.

Ao grande amigo de todas as horas, Paulo Clemente.

Às minhas grandes e queridas amigas, Sandra e Flávia, por terem dividido comigo dois anos especiais e por sua amizade incondicional e verdadeira.

À minha mãe, Angela, por seu estímulo.

Ao meu marido, Márcio, por sua compreensão, estímulo e carinho durante todo o difícil percurso.

E àqueles que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste curso de mestrado, o meu muito obrigada.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Atividade antibacteriana de diversos condimentos.....	3
2.2 Cúrcuma.....	16
2.2.1 Generalidades sobre a planta <i>Curcuma longa</i> L.....	16
2.2.2 Composição Química do rizoma	21
2.2.3 Caracterização química da curcumina	23
2.2.5 Extração dos pigmentos	26
2.2.6 Estabilidade da curcumina	30
2.2.7 Processamento da cúrcuma	31
2.2.8 Produtos de cúrcuma e aplicações	33
2.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	38
2.3.1 Caracterização do microrganismo	39
2.3.2 Enterotoxinas estafilocócicas	40
2.4 Ricota.....	43
2.5 Legislação	44
3 MATERIAL E MÉTODOS	46
3.1 Fabricação da ricota.....	47
3.2 Análises físico-químicas realizadas do soro e das ricotas antes da inoculação e condimentação	48
3.2.1 Análises físico-químicas do soro.....	48
3.2.2 Análises físico-químicas das ricotas	48
3.3 Microrganismo utilizado.....	49
3.4 Preparo do inóculo.....	49
3.5 Avaliação do efeito da cúrcuma em pó e do extrato alcoólico de cúrcuma no crescimento de <i>S. aureus</i>	50
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4.1 Análises físico-químicas do soro.....	51
4.2 Análises físico-químicas das ricotas no dia da fabricação	52
4.3 Resultados de pH das ricotas condimentadas com cúrcuma em pó.....	53
4.4 Resultados de pH das ricotas condimentadas com extrato alcoólico.....	54

4.5 Efeito da cúrcuma em pó no crescimento de <i>Staphylococcus aureus</i>	56
4.6 Efeito do extrato alcoólico de cúrcuma no crescimento de <i>Staphylococcus aureus</i>	59
5 CONCLUSÕES	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

RESUMO

FERREIRA, Ana Cristina. Uso do açafrão (*Curcuma longa* L.) na redução de *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 em ricota. 2003, 76p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.¹

Este trabalho teve por objetivo avaliar os efeitos de várias concentrações de cúrcuma em pó e de extrato alcoólico de cúrcuma no controle de *Staphylococcus aureus* em ricota cremosa. As ricotas foram preparadas segundo técnica desenvolvida na Escola Agrotécnica Federal de Inconfidentes, condimentadas com concentrações de 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1,0%, 20%, 30%, 4,0%, 5,0% e 6,0% de cúrcuma em pó e estas mesmas concentrações de sólido no extrato alcoólico, e inoculadas com $10^4 - 10^5$ UFC/g (*Staphylococcus aureus* por grama de ricota). Uma parcela da ricota foi inoculada com o microrganismo sem condimentação com a cúrcuma, sendo considerada tratamento controle. As ricotas foram analisadas nos dias 0, 1, 7, 14 e 21, sempre mantidas estocadas a 5°C. Além da contagem de *Staphylococcus aureus* foram efetuadas análises de pH durante todo o período de estocagem. Foi verificado com a contagem de microrganismos que a cúrcuma em pó não apresenta efeito inibitório no crescimento de *S. aureus*. Já utilizando-se o extrato alcoólico de cúrcuma, observou-se queda do crescimento do microrganismo já no primeiro dia após a fabricação, sendo que nas concentrações acima de 3,0% houve inibição total do microrganismo no sétimo dia de estocagem, comprovando a ação do extrato sobre o *Staphylococcus aureus*. O resultado obtido viabiliza o uso do extrato alcoólico de cúrcuma na condimentação da ricota, desenvolvendo, assim, um novo produto e propiciando o aumento da vida de prateleira da ricota por reduzir o grau de contaminação por *S. aureus*.

¹ Comitê Orientador: Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA (Orientador), Celso José de Moura – UFG.

ABSTRACT

FERREIRA, Ana Cristina. Utilization of turmeric (*Curcuma longa* L.) in reduction of *Staphylococcus aureus* ATCC 12600 in ricotta cheese. 2003, 76p. Dissertation (Master in Food Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.¹

The object of this study was to evaluate the effects of turmeric powder and alcohol extract from turmeric in the control of *Staphylococcus aureus* in creamy ricotta cheese. Ricotta Cheese was prepared according to techniques developed in the Federal School of Agrotechnology in Inconfidentes/MG/Brasil. Concentrations of 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, 1.0%, 2.0%, 3.0%, 4.0%, 5.0% and 6.0% of turmeric powders and the same concentrations of alcohol extracts of turmeric, were inoculated with $10^4 - 10^5$ UFC/g (*S. aureus* per gram of ricotta cheese). Another batch of ricotta cheese without turmeric was inoculated with microorganism, considered control treatment. The ricotta cheeses were analyzed on 0, 1, 7, 14 and 21 days, always in the storage temperatures of 5° C. Besides *Staphylococcus aureus* counting, pH analyses was also taken during this period. It was verified after the microorganism counting that turmeric powder did not retard the growth of *Staphylococcus aureus*, but with the use of alcohol extract from turmeric, it was noted a drop in the microorganism growth on the first day after preparation, and in concentrations above 3.0% a total inhibition of the microorganism growth on day 7 was observed, confirming the action of alcohol extract upon *Staphylococcus aureus*. These results, indicate the feasibility of the alcohol extract from turmeric in preparing ricotta cheese, developing thus, a new product that increases the shelf life of ricotta cheese, by reducing the growth rate of *S. aureus*.

¹ Guidance Committee: Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA (Adviser), Celso José de Moura – UFG.

1 INTRODUÇÃO

Os condimentos e as especiarias foram muito utilizados pelos povos antigos para melhorar a palatabilidade de alimentos e aromatizar bebidas. Foram também empregados pelos gregos e romanos com finalidades estéticas e medicinais.

Os condimentos apresentam propriedades antimicrobianas, antioxidantes e medicinais. Porém, apesar dessas propriedades são normalmente utilizados com o propósito principal de realçar o sabor dos alimentos.

Além dos benefícios proporcionados à saúde, diversos estudos têm demonstrado o efeito inibidor de condimentos no crescimento de microrganismos deterioradores e patogênicos veiculados por alimentos.

As propriedades antimicrobianas dos condimentos têm despertado o interesse dos pesquisadores e vários estudos têm sido realizados com a perspectiva de substituir os aditivos sintéticos utilizados em alimentos por conservantes naturais presentes em condimentos.

Uma vez que os corantes sintéticos têm sido apontados como causadores de efeitos tóxicos ao homem (Safford & Goodwin, 1985), os corantes naturais são a melhor alternativa para substituí-los, por serem consumidos desde a antiguidade, sem causar qualquer efeito tóxico aparente.

Uma providência urgente é a substituição do corante artificial tartrazina, de cor amarela, que tem causado problemas alérgicos ao homem (Safford & Goodwin, 1985). Dentre as alternativas existentes, têm-se a crocina e a curcumina (Guimarães, 1987). A crocina, por estar contida nos estigmas da flor do *Crocus sativus*, tem custo alto e, portanto, pouco viável. A curcumina é o principal pigmento presente no óleo resinoso dos rizomas da *Curcuma longa*. Esta planta apresenta a vantagem de não exigir tratamentos culturais especiais,

apresentar boa produtividade (20 t/hectare) e conter, em média, 6% de curcuminóides (Nunes, 1989). Outro constituinte importante da cúrcuma é o óleo volátil (até 5%) rico em substâncias aromáticas, que pode ser utilizado como flavorizante na indústria alimentícia. Os rizomas da cúrcuma apresentam também elevados teores de amido, fibras e proteínas.

À curcumina tem sido atribuídas propriedades antioxidantes (Govindarajan, 1980) e antiinflamatórias (Ghatak & Basu, 1972). Além dos benefícios proporcionados à saúde, diversos estudos têm demonstrado o efeito inibidor de condimentos no crescimento de microrganismos deterioradores e patogênicos veiculados por alimentos.

O trabalho proposto objetivou avaliar a ação do açafrão (*Curcuma longa* L.) no controle de *Staphylococcus aureus* em queijo ricota, considerando-se que, em queijos, esse microrganismo é um dos mais freqüentemente encontrados. Para isso utilizou-se pó do rizoma seco de cúrcuma e extrato alcoólico obtido do pó do rizoma seco em diversas concentrações.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Atividade antibacteriana de diversos condimentos

Os condimentos e as especiarias são definidos como sendo produtos aromáticos de origem vegetal, utilizados com a finalidade principal de temperar alimentos ('American Spice Trade Association' e "Food and Drug Administration", citados por Dziezak, 1989). Os condimentos possuem também propriedades antimicrobianas, antioxidantes e medicinais. De acordo com Shelef (1983), existem aproximadamente 70 condimentos diferentes, cultivados e utilizados em todo o mundo. Embora sejam cultivados em diversos países tropicais, sua produção em escala comercial restringe-se a poucas regiões do sul e do sudeste da Ásia. Sendo a Índia o maior exportador. De acordo com Pruthi (1980), países como os Estados Unidos, Singapura e Austrália destacam-se como os maiores importadores.

Atualmente, as propriedades antimicrobianas dos condimentos têm despertado interesse pelas perspectivas de se constituírem em alternativa para as exigências dos consumidores, quanto à utilização de aditivos naturais em alimentos. Segundo Shelef (1983), a concentração de condimento para inibição do crescimento bacteriano está na faixa de 1% a 5%. Entretanto, as concentrações normalmente utilizadas com a finalidade de realçar o sabor e o aroma dos alimentos variam de 0,5% a 1% e não inibem o crescimento bacteriano. Deans & Ritchie (1987) destacaram que a utilização dos óleos essenciais de plantas, em substituição aos aditivos sintéticos para alimentos, dependerá, fundamentalmente, de se determinar uma concentração ideal que exerça, simultaneamente, efeito antimicrobiano e intensificador do sabor e do aroma dos alimentos.

Vários estudos têm evidenciado que os princípios ativos dos condimentos localizam-se na fração de óleo essencial (Parry, 1962; Hitqkoto et al., 1980; Pruthi, 1980; Farag et al. 1989). Os óleos essenciais dos condimentos são misturas complexas de diferentes compostos, que contribuem com as propriedades antimicrobianas (Parry. 1962; Pruthi, 1980). De acordo com Pruthi (1980), as condições agroclimáticas do local de origem das plantas influenciam na composição final de óleos essenciais. Além disso, a temperatura empregada na secagem dos condimentos pode levar a uma grande perda, por volatilização, dos princípios antimicrobianos presentes nos óleos. Esse mesmo autor também relatou que, embora os óleos essenciais dos condimentos sejam os principais constituintes com ação antibacteriana, os taninos e os alcalóides presentes nestes produtos podem exercer atividade antibacteriana complementar. Os principais constituintes químicos de óleos essenciais de alguns condimentos e a parte da planta onde eles se encontram estão relacionados no Quadro 1.

Shelef (1983) considerou que a maioria dos componentes antimicrobianos dos condimentos são compostos fenólicos contendo um grupo hidroxila e com peso molecular de 150 a 160. Estudos realizados por Kataiama & Nagai (1960), citados por Pruthi (1980) e por Shelef (1983), relacionaram a estrutura química e a atividade antimicrobiana dos componentes principais dos óleos essenciais. Eles demonstraram não haver diferença na atividade antibacteriana com a variação do número de ligações duplas nem com a presença de um radical cetona no núcleo aromático de tais compostos. Entretanto, verificaram que a introdução de uma hidroxila neste núcleo resulta em um aumento na atividade antibacteriana. O eugenol, o timol, o carvacrol, o isoborneol, a vanilina e o aldeído salicílico são compostos que apresentam a hidroxila ligada ao anel ciclohexano e estão entre os mais potentes agentes antimicrobianos encontrados nos condimentos. Laekeman et al., (1990)

verificaram que o grupamento hidroxila livre do eugenol e do isoeugenol é necessário para a atividade antibacteriana, mas não para a atividade antifúngica.

Embora a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais tenha sido relatada em numerosos trabalhos, poucos estudos têm relacionado o mecanismo de ação desses produtos naturais na célula microbiana.

Conner & Beuchat (1984) sugeriram que os óleos essenciais provavelmente danificam vários sistemas enzimáticos, inclusive os envolvidos na produção de energia celular e na síntese de compostos estruturais. Pesquisas sobre o efeito de óleos essenciais em células de leveduras injuriadas pelo calor indicaram que o tratamento térmico subletal danifica, metabólica ou estruturalmente, as células. A presença dos óleos essenciais interfere também com o mecanismo de reparo necessário para a divisão celular e, conseqüentemente, para a formação de colônias Conner & Beuchat (1984). Neste estudo, os autores sugeriram que o tratamento térmico causa danos ou lesões na membrana citoplasmática, permitindo que os componentes antimicrobianos dos óleos movam-se mais rapidamente para o interior celular, danificando o metabolismo normal.

QUADRO 1. Principais constituintes químicos dos óleos essenciais dos condimentos e a parte da planta em que estão localizados. *

Condimento	Nome científico	Principal constituinte do óleo essencial	Parte da planta
Açafrão	<i>Crocus sativus</i>	2,2,6-trimetil-4,6,ciclohexadienal	flor
Cúrcuma	<i>Curcuma longa</i>	2-metil-6-(4-metilfenil)-2-hepteno-4-ona (turmerona); endo-1,7,7-trimetil-diciclo [2,2,2]-2-heptanol (borneol)	rizoma
Alcaravia	<i>Carum carvi</i>	2-metil-5-(1-metiletenil)2-cicloexeno-1-ona (carvona)	semente
Alecrim	<i>Rosemarinus officinalis</i>	Endo-1,7,7-trimetil-diciclo [2,2,1]-2-heptanol (borneol); 1,3,3-trimetil-2-oxadiciclo [2,2,2]-octano (cineol)	folha
Alho	<i>Allium sativum</i>	Dialial dissulfito; dialial trissulfito; alil propil dissulfito	bulbo
Anis	<i>Pimpinella anisum</i>	1-metoxi-4-(1-propenil) benzeno (anetol)	semente
Canela	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	3-fenil-2-propenal (aldeído cinâmico); 2-metoxi-4-(2-propenil) fenol (eugenol)	casca
Cebola	<i>Allium cepa</i>	n-propil-dissulfito; metil-n-propil-dissulfito	bulbo
Coentro	<i>Coriandrum sativum</i>	3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol (linalool); 2,6,6-trimetil-diciclo [3.1.1]-2-hepteno (pineno)	fruto
Cominho	<i>Cuminum cyminum</i>	4-(1-metiletil) benzaldeído (aldeído cumínico)	fruto
Cravo	<i>Syzygium aromaticum</i>	2-metoxi-4-(2-propenil) fenol (eugenol)	botão floral
Gengibre	<i>Zingiber officinale</i>	1,3,3-trimetil-2-oxa-diciclo [2.2.2] octano (cineol); endo-1,7,7-trimetil diciclo [2.2.1]-2-heptanol (borneol); 3,7-dimetil-2,6-octadien-1-ol (geraniol)	rizoma

“...continua...”

“Quadro 1, cont.”

Hortelã	<i>Mentha spicata</i>	2-metil-5-(1-metiletenil)-2-ciclohexeno-1-ona (carvona)	Folha
Louro	<i>Laurus nobilis</i>	1,3,3-trimetil-2-oxadeciclo [2.2.2] octano (cineol)	folha
Manjeriço	<i>Ocimum basilicum</i>	3,7-dimetil-1,6-octadien-3-ol (linalool); metil-p-alil fenol	folha
Mostarda (marrom)	<i>Brassica juncea</i>	(alil isotiocianato)	semente
Noz moscada	<i>Myristica fragans</i>	2,6,6-trimetil-diciclo-[3.1.1]-2-hepteno (pineno); 1-metil-4-(1-metiletenil) ciclohexeno (limoneno)	fruto
Orégano	<i>Origanum vulgare</i>	5-metil-2- (1-metiletil) fenol (timol); 2-metil-5-(1-metiletil) fenol (carvacrol)	folha
Páprica	<i>Capsicum frutescens</i>	-	fruto
Pimenta-da-jamaica	<i>Pimenta dioica</i>	2-metoxi-4- (2-propenil) fenol (eugenol)	fruto
Pimenta preta	<i>Piper nigrum</i>	Monoterpenos; sesquiterpenos	fruto
Sálvia	<i>Salvia officinalis</i>	4-metil-1 a -(1-metiletil) biciclo [3.1.0]-3-hexanona (tujona); 1,3,3-trimetil-2-oxadeciclo [2.2.2] octano (cineol)	folha
Segurelha	<i>Satureja ortensis</i>	2-metil-5-(1-metiletil) fenol (carvacrol)	folha
Tomilho	<i>Thymus vulgaris</i>	5-metil-2-(1-metiletil) fenol (timol)	folha

*FONTE: Adaptado de Parry (1962) e Dzieczak (1989).

Estudos realizados por Barel & Yashphe (1989) em células de *Escherichia coli* tratadas com óleo essencial de *Achillea fragrantissima* reforçaram as evidências de que os óleos de plantas atuam principalmente na membrana bacteriana, inibindo a respiração celular, reduzindo o conteúdo de ATP, além de facilitarem a liberação de polipeptídios e íons K^+ para o meio. Os resultados apresentados por Nychas et al. (1990) também evidenciaram o aumento da permeabilidade da membrana citoplasmática com perda de constituintes celulares de *Staphylococcus aureus* cultivado na presença de compostos fenólicos extraídos de plantas. As propriedades antimicrobianas dos condimentos e de seus óleos essenciais têm sido estudadas, principalmente, com relação ao efeito inibidor de microrganismos patogênicos presentes em alimentos.

Diversos autores têm pesquisado as atividades antifúngicas e antitoxigênicas dos condimentos. Bullerman (1974) verificou uma inibição acentuada da produção de aflatoxinas, quando canela foi adicionada a pães, embora o crescimento micelial de *Aspergillus parasiticus* não tenha sido afetado de forma pronunciada. Bullerman et al. (1977) demonstraram que os óleos de canela e de cravo foram inibidores do crescimento e da produção de aflatoxinas de *A. parasiticus* nas concentrações de 200 e 250 ppm, respectivamente, enquanto o aldeído cinâmico e o eugenol, que são os principais constituintes desses óleos, apresentaram efeito inibidor nas concentrações de 150 e 125 ppm, respectivamente. Estudos realizados por Hitokoto et al. (1980) evidenciaram a inibição completa do crescimento de três espécies toxigênicas de *Aspergillus* por cravo, anis e pimenta-da-jamaica, enquanto outros condimentos inibiram apenas a produção da toxina. Ao avaliar o efeito do timol, principal componente dos óleos de orégano e de tomilho, Buchanan & Shepherd (1981) constataram uma atividade antiaflatoxigênica significativa, decorrente da inibição do crescimento fúngico. Bahk & Marth (1983) mostraram que o ginseng permitiu o crescimento

micelial de *A. parasiticus* e a produção da aflatoxina B₁, porém, inibiu a produção da toxina G₁. O efeito antifúngico de seis óleos essenciais de plantas cultivadas em Marrocos foi demonstrado por Benjilali et al. (1984), que verificaram a sensibilidade de 39 fungos aos antimicrobianos presentes na artemísia, no tomilho, no alecrim e no eucalipto. O maior efeito inibidor foi do óleo de tomilho. Akgul & Kivanç (1988) avaliaram a atividade inibidora de cominho, coentro, endro, louro, orégano, salsa, hortelã, manjerição e mostarda no crescimento de fungos veiculados por alimentos e verificaram um efeito inibidor pronunciado do orégano. Esses autores também observaram um efeito sinérgico resultante da combinação de orégano com cloreto de sódio.

A atividade inibidora de condimentos sobre fungos produtores de micotoxinas foi avaliada por Azzous & Bullerman (1982), que demonstraram que cravo, canela, mostarda, pimenta-da-jamaica, alho e orégano foram, em ordem decrescente, os antifúngicos mais eficientes. Estes autores evidenciaram, ainda, que combinações de concentrações diferentes de cravo e de sorbato de potássio exercem um possível efeito inibidor sinérgico no crescimento dos fungos estudados. A inibição do crescimento e da produção de toxinas por *A. parasiticus*, pelos óleos essenciais de tomilho, de cominho, de cravo, de alcaravia, de alecrim e de sálvia também foram demonstradas por Farag et al. (1989).

Embora as atividades antifúngica e antitoxigênica dos condimentos sejam características comprovadas, resultados experimentais demonstraram, em alguns casos, um efeito ativador do crescimento microbiano. Salmeron et al. (1990a) evidenciaram que orégano e tomilho, acrescentados no meio de cultura em concentrações de até 4%, estimularam o crescimento de *A. parasiticus* e *Aspergillus flavus*, embora tenham exercido atividade antiaflatoxigênica. Avaliando a atividade de páprica no crescimento e na produção de micotoxinas por espécies de *Aspergillus*, Salmeron et al. (1990b) verificaram que este

condimento, em concentrações que variaram de 1% a 4%, estimulou o crescimento e a produção de micotoxinas.

A influência do pH na atividade antifúngica de substâncias naturais presentes nos óleos essenciais de condimentos foi demonstrada por Thompson (1990). Este autor verificou que o timol foi tóxico para espécies de *Aspergillus* em diversas condições de pH, enquanto o carvacrol inibiu a atividade fúngica de forma menos acentuada, quando as espécies foram cultivadas no pH ótimo de crescimento. O autor sugeriu ainda que o pH do meio de cultura pode afetar a sensibilidade microbiana dos óleos essenciais.

A inibição de leveduras deterioradoras de alimentos pelos condimentos foi estudada por Conner & Beuchat (1984 a). Eles verificaram que, dentre 32 óleos essenciais extraídos de condimentos, os óleos de pimenta-da-jamaica, de canela, de cravo, de cebola, de alho, de orégano, de segurelha e de tomilho foram, em ordem decrescente, os maiores inibidores. Conner & Beuchat (1984 b) analisaram a sensibilidade de oito leveduras à presença de óleos essenciais de condimentos que, comprovadamente, exerceram efeito inibidor sobre este grupo de microrganismos. Após submeterem as células a estresse térmico subletal, estes autores observaram o aumento da sensibilidade aos óleos essenciais. Moran et al. (1989) demonstraram a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Artemisia caerulea* no crescimento de *Candida albicans* e de *Saccharomyces cerevisiae*.

Em estudos da atividade “in vitro” do eugenol e de seus derivados sobre o crescimento de fungos, leveduras, bactérias e vírus, Lackeman et al. (1990) demonstraram apenas a ausência de atividade antiviral. Esses autores recomendaram a utilização do eugenol como uma estrutura básica para o desenvolvimento de drogas antimicrobianas.

A

De Wit et al. (1979) estudaram o efeito dos óleos de alho e de cebola na produção da toxina botulínica, verificando que, na concentração de 1.500 µg/g, ambos inibiram a produção da toxina tipo A, mas não afetaram a produção das toxinas tipos B & E. Huhtanen (1980) avaliou a inibição do crescimento de *Clostridium botulinum* pela ação de 33 extratos alcoólicos de condimentos, demonstrando que massis, louro, pimenta preta e noz-moscada foram os agentes antibotulínicos mais eficientes. Hall & Maurer (1986) realizaram estudos buscando tecnologia alternativa para o emprego do nitrito em carnes curadas e comprovaram que os extratos de massis, louro e noz-moscada foram inibidores eficientes da produção de toxina botulínica, enquanto os extratos de pimenta-preta e de pimenta branca apresentaram efeito antimicrobiano menos acentuado. Segundo os resultados apresentados por Ismaiel & Pierson (1990), os óleos de alho, de cebola, de canela, de tomilho, orégano e de pimenta-preta impediram esporos de *C. botulinum* 67B, assim como os óleos de cravo e de pimenta-da-jamaica, porém, quando utilizados em concentração maior. Neste mesmo estudo, os óleos de cravo e de pimenta-preta apresentaram o maior efeito inibidor do crescimento de *C. botulinum* e os autores sugeriram a aplicação desses óleos como agentes antibotulínicos em certos alimentos.

Mac Neil et al. (1973) constataram uma contagem total de bactérias baixa em carnes de frango mecanicamente desossadas e adicionadas de extrato de alecrim, nas concentrações de 0,01% e 0,05%. Farbood et al. (1976) verificaram que o extrato de alecrim apresentou uma inibição acentuada do crescimento de *Staphylococcus aureus* e de *Salmonella thyphimurium*, enquanto *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* e *Pseudomonas fluorescens* foram menos inibidos. Beuchat (1976) observou que o orégano e o tomilho foram bactericidas para *Vibrio parahaemolyticus* na concentração de 0,15%, enquanto seus óleos essenciais demonstraram esta atividade em concentrações de 100 µg/mL. A suscetibilidade de diversas bactérias ao alecrim, à sálvia e à pimenta-

da-jamaica foi demonstrada por Shelef et al. (1980). Eles concluíram que, em concentrações menores que 0,5%, a sálvia e o alecrim apresentaram efeito bacteriostático e que a combinação dos condimentos aumentou o efeito antibacteriano. Os mesmos autores sugeriram serem as bactérias gram-positivas mais sensíveis aos condimentos que as gram-negativas.

Garg & Garg (1980) verificaram que, dentre os óleos de gerânio, de gengibre, de cedro e de citronela, os dois primeiros foram os mais eficientes contra nove espécies de bactérias patogênicas. O crescimento de *S. aureus*, *E. coli*, *Proteus vulgaris* e *Pseudomonas pyocyanea* na presença de compostos isolados da artemisia foi observado por Tharib et al. (1983), que verificaram a inibição dos microrganismos, com a exceção da *P. pyocyanea*.

Em estudos relacionando o efeito de sálvia no crescimento de bactérias enteropatogênicas e deterioradoras em alimentos e em caldo nutriente, Shelef et al. (1984) demonstraram que o *Bacillus cereus* foi o menos resistente, seguido pelo *S. aureus*, *Pseudomonas sp* e *S. thyphimurium*. Neste estudo, verificou-se que a sálvia foi mais eficiente contra bactérias gram-positivas. Sendo o seu efeito antimicrobiano mais acentuado em caldo nutriente do que em alimentos.

Torres (1985) avaliou o efeito de extratos de alecrim em culturas puras de sete espécies de *Salmonella* e verificou que ao esterilizar os extratos e o meio de cultura conjuntamente, a atividade bactericida do alecrim foi mais pronunciada.

A sensibilidade de *S. thyphimurium*, *S. aureus* e *V. parahaemoliticus* ao efeito do tomilho, da menta, do louro e de seus respectivos extratos alcoólicos, foi avaliada por Aktug & Karapinar (1986). Os autores concluíram que o *S. aureus* é o microrganismo mais afetado e o tomilho, o condimento mais inibidor. Em outro estudo, os mesmos autores demonstraram o efeito inibidor da flor de tilia e de seus extratos alcoólicos no crescimento de *S. thyphimurium*, *S. aureus*

e *V. Parahaemolyticus*, constatando novamente a maior sensibilidade do *S. aureus* (Aktug & Karapinar, 1987). Estes autores também verificaram a inibição do crescimento de *S. typhimurium*, *S. aureus* e *V. parahemolyticus* pelo timol, eugenol, mentol e anetol, que são respectivamente, os componentes principais dos óleos de orégano, de cravo, de menta e de anis, e concluíram que o eugenol apresentou o maior efeito inibidor do crescimento bacteriano.

A suscetibilidade de bactérias patogênicas veiculadas por alimentos, em particular *Listeria monocytogenes* a extratos de seis plantas chinesas, foi analisada por Chung et al. (1990). Eles verificaram o acentuado potencial inibidor do crescimento bacteriano apresentado por esses produtos naturais. Deans & Svoboda (1990) demonstraram a atividade antimicrobiana do óleo volátil de manjerona em 25 espécies de bactérias e cinco espécies de fungos. O óleo foi inibidor do crescimento fúngico e, enquanto *E. coli* e *S. aureus* foram poucos afetados, outros organismos de grande significado para a saúde pública como *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella pulorum* foram sensíveis ao óleo essencial deste condimento.

Raccach & Henningsen (1984) verificaram o comportamento da *Y. enterocolitica* na presença de condimentos. Eles demonstraram que o pó de alho e de pimenta-branca, nas concentrações de 0,02% e 0,016%, respectivamente, não foi inibidor do crescimento de *Y. enterocolitica* sorogrupos 0:3 e 0:8, inoculadas em carnes curadas. Ao avaliar a sensibilidade de *Y. enterocolitica* NCTC 10460 a diversos óleos essenciais, Deans & Ritchie (1987) verificaram que o óleo de tomilho proporcionou maior inibição desta bactéria. Os óleos de canela, cravo e menta apresentaram uma atividade antibacteriana menos acentuada e os óleos de sálvia e de alecrim praticamente não inibiram esse patógeno. Estudos realizados por Deans & Ritchie (1990) demonstraram que o crescimento de *Y. enterocolitica* NCTC 10460 foi razoavelmente inibido pelo óleo essencial de manjerona.

Alguns poucos estudos têm demonstrado o efeito dos condimentos no comportamento de bactérias lácticas, principalmente aquelas responsáveis pela iniciação de processos fermentativos de produtos cárneos. Zaika & Kissinger (1979) analisaram a atividade do gengibre, da pimenta-vermelha, da mostarda, da noz-moscada, da canela e do cravo no crescimento e na produção de ácido, por culturas de *Lactobacillus plantarum* e *Pediococcus cerevisiae* e observaram haver uma estimulação da produção de ácidos, embora não tenha sido constatado um aumento da população bacteriana. Estes autores sugeriram que o aumento da produção de ácido pode ser atribuído a traços de metais, co-fatores, enzimas ou outros constituintes dos condimentos. Zaika & Kissinger (1981) verificaram que, embora o orégano possa ser bactericida para *L. plantarum* e *P. cerevisiae*, há a possibilidade desses microrganismos se tornarem resistentes quando cultivados primeiramente em concentrações subletais desse condimento. O desenvolvimento de resistência múltipla por culturas de *L. plantarum* e *Pediococcus acidilactici* ao efeito inibidor do orégano, alecrim, sálvia e tomilho foi constatado por Zaika et al. (1983).

Luchesc (1987) verificou que a estimulação da produção de ácidos por *L. plantarum* e *P. Pentosaceue*, utilizados na fabricação de salame, pela pimenta-preta, alho e noz-moscada foi dependente do tipo de condimento, da cultura empregada e do tempo de incubação.

Embora estudos *in vitro* da atividade antimicrobiana dos condimentos tenham sido realizados, são necessárias maiores investigações para que a aplicação prática destas substâncias naturais seja consolidada. A combinação do uso de aditivos naturais com o emprego de outras técnicas de conservação de alimentos, como o tratamento térmico, a refrigeração e a diminuição da atividade de água (aw) dos alimentos, foi recomendada por Shibasaki (1982). Ele avaliou a conservação de alimentos por agentes antimicrobianos não

tradicionais, como os aminoácidos, as enzimas, os álcoois, os condimentos, entre outros componentes naturais de alimentos.

Segundo Shelef (1983), em razão da sua composição mais complexa, os alimentos exigem maiores concentrações de conservantes para que haja efeito inibidor do crescimento microbiano, do que aquelas utilizadas em meios de cultura sintéticos.

São vários os fatores a serem considerados no processamento de alimentos acrescentados de condimentos. Por exemplo: 1) a sanificação dos condimentos, uma vez que eles podem constituir em fonte de contaminação microbiana dos alimentos; 2) a concentração dos condimentos a ser usada, pois as muito elevadas podem causar problemas organossensoriais; 3) a parte da planta que possui o princípio ativo; 4) as alterações passíveis de ocorrer em virtude da localização geográfica de cultivo dessas plantas e 5) as provenientes da temperatura de secagem empregada. É também imprescindível haver uma padronização na nomenclatura dos condimentos e os trabalhos devem relacionar os nomes popular e científico das plantas. Há evidências de que em alimentos processados sob condições higiênico-sanitárias adequadas e contendo uma população microbiana relativamente baixa, os efeitos antimicrobianos dos condimentos e especiarias podem oferecer uma proteção substancial contra diversos tipos de microrganismos. Além dos fatos mencionados, os produtos naturais apresentam como características relevantes a relativa inocuidade à saúde do consumidor e os baixos custos.

2.2 Cúrcuma

2.2.1 Generalidades sobre a planta *Curcuma longa* L.

O gênero *Curcuma*, pertencente à família *Zingiberaceae*, é constituído por cerca de 70 espécies de plantas herbáceas distribuídas pela Índia, China, Formosa, Indonésia, Java, Filipinas, Caribe, Norte da Austrália e América do Sul. A cúrcuma em pó comercial é o rizoma seco e pulverizado de uma dessas espécies, a *Curcuma longa* L. (Mathai C.K., 1979).

A *Curcuma longa* L. é descrita por Correa (1975), como uma erva de 120-150 cm de altura, rizomas tuberculosos de centro alongado e laterais arredondadas, duros, de cor variável interiormente, predominando o laranja; folhas grandes (peciolo tão comprido como o limbo) oblongolanceoladas, aromáticas quando amassadas, flores amareladas, longo-pendunculadas, dispostas em espigas compridas. Os caules são anuais, emergem das gemas dos rizomas e depois do florescimento, completando o ciclo vegetativo, amarelecem e morrem.

A cúrcuma é também conhecida como açafrão, açafrão da terra, açafrão da Índia, batatinha amarela, gengibre dourado e mangarataia em algumas regiões do Brasil.

Na Índia é conhecida como haldi; nas Filipinas como dilan; na França como “safran des Indes” e “souchet des Indes”; em Cuba como jengibrillo e como turmeric em países de língua inglesa (Correa, 1975).

A cúrcuma pode ser cultivada em regiões de clima tropical e subtropical onde haja temperaturas elevadas e chuvas abundantes. Prefere solos frescos, arenosos, férteis e ricos em matéria orgânica. Solos compactos dificultam a formação dos rizomas. Os solos úmidos e encharcados devem ser evitados (Donalisio, 1980).

A *Curcuma longa* L. apresenta a vantagem de não exigir tratos culturais especiais, desenvolvendo-se bem em diversas condições tropicais, em altitudes que variam do nível do mar a 1500m em temperaturas de 20° a 30° C. Seu ciclo vegetativo varia de 7 a 9 meses e sua propagação se dá pela divisão das raízes. A planta pode atingir mais de 1 m de altura e a colheita é feita quando as folhas tornam-se amarelas. Os rizomas são retirados da terra, lavados e secos para serem processados (Govindarajan, 1980).

O principal produtor mundial da cúrcuma é a Índia (22 toneladas de rizomas/ hectare), que possui diversas cultivares, dentre elas o Alleppey, com uma média de 7% de curcumina. No Brasil, a cúrcuma é mais cultivada em Goiás, Mato Grosso e São Paulo. A produção nacional é de 8 a 12 toneladas de rizomas/ hectare, com teores médios de curcumina de 3,5% (Oliveira et al. 1992).

A cúrcuma se propaga normalmente por via assexuada por meio dos rizomas, apresentando poucas variedades que se distinguem principalmente pela cor intensa dos rizomas, sendo preferível cultivar a que apresenta coloração mais intensa.

No plantio, a propagação é feita por meio de gomos, pedaços de rizomas destacados do rizoma principal (Donalisio, 1980). Os gomos devem receber tratamento contra bactérias e serem colocados em pré-germinação. Dentro de 15 a 30 dias as gemas se desenvolvem e as mudas mais vigorosas e uniformes são destinadas ao plantio. No campo o plantio é feito com espaçamento de 1m entre linhas e 40cm entre plantas. A cúrcuma necessita de adubação mineral complementar e a rotação de culturas evita doenças, como a bacteriose (Govindarajan, 1980; Donalisio, 1980).

Krishnaswamy et al. (1971) encontraram uma alta incidência de aeróbios termófilos e esporos de aeróbios mesófilos em rizomas de cúrcuma, assim como

um pequeno número de *Staphylococci*, *Clostridium perfringens* e baixa incidência de coliformes. O controle pode ser efetuado por fumigação, radiação ou aquecimento, que implica em perda de cor (Mattada et al., 1974).

No Brasil, a época de plantio vai de agosto a setembro e os rizomas podem ser colhidos de 6 a 10 meses após, dependendo das condições climáticas, quando a parte aérea começa a amarelecer e secar. Quando os rizomas destinam-se à extração de oleoresina, devem ser colhidos no segundo, com dois ciclos de idade (Donalizio, 1980). Os rizomas são retirados da terra, limpos das raízes aderentes e lavados para serem processados (Govindarajan, 1980). O rendimento em rizomas frescos é de 10 t/ha (Donalizio, 1980), e apresenta um rendimento, em rizomas secos de diversas variedades indianas, entre 0,46 e 3,64 t/ha (Sholto, 1973).

Os rizomas da cúrcuma também têm sido usados como repelente de insetos na Índia (Sreenivasa Murthy & Krishnamurthy, 1959) e no Paquistão (Jilani, 1985). Assim, a cúrcuma em pó é comumente misturada ao arroz bamati para protegê-lo contra insetos nesses países (Chatterjee, 1980). A ação repelente da cúrcuma tem sido atribuída às turmeronas e andarturmerones (Su et al., 1982) presentes no seu óleo volátil que é odorífero e pungente.

A cúrcuma tem sido amplamente utilizada na medicina indiana devido aos seus efeitos benéficos, tais como antiinflamatório, antiartrítico (Sambaiah et al., 1982), regulador das funções biliares (Ramprasad & Sirsi, 1956) e redutor dos níveis de colesterol (Subba Rao et al., 1970). Os rizomas da cúrcuma têm sido usados como remédio caseiro, como estimulante ou carminativo, por curar dispepsia e flatulência, ou afecções de pele devido às impurezas do sangue. Os rizomas têm sido ainda empregados na forma de pasta para curar contusões, inflamações de juntas e arranhões (Nadkarni & Nadkarni, 1980).

Na medicina indiana, a cúrcuma é empregada como digestivo, tônico e purificador do sangue. O filtrado da decocção dos rizomas de cúrcuma é empregado para aliviar a oftalmia purulenta, aplicando-a no local afetado (Ammon & Wahl, 1991; Herbal et al., 1999).

Estudos investigando o efeito da cúrcuma no crescimento de bactérias patogênicas mostraram uma significativa supressão do crescimento de microrganismos pela oleoresina (4,5 - 90 μ L/100 mL). O extrato alcoólico da cúrcuma (10 - 200 mg/100 mL) induziu mudanças morfológicas em estreptococos, lactobacilos e estafilococos (Shankar & Murthy, 1979).

O extrato de cúrcuma mostrou atividade na redução de taxas de glicose no sangue de ratos diabéticos induzidos. Após 3 ou 6 horas da ingestão de 10 mg de cúrcuma, foi observada queda nos níveis de glicose de 37,2% e 54,5%, respectivamente (Tank et al., 1990).

Os extratos etéreos e clorofórmicos da *C. longa* mostraram atividade fungistática contra muitos dermatófitos *in vitro* (Mishra & Sahu, 1977). Banerjee & Nigam (1978) observaram que o óleo volátil da cúrcuma na diluição de 1:10 inibiu o crescimento de fungos. Atividade contra *Entamoeba histolytica* dos extratos alcoólicos de cúrcuma também foi reportada *in vitro* (Dhar et al., 1968).

Lutomski et al. (1974) reportaram que os óleos voláteis da cúrcuma possuem propriedades antibacteriana, fungicida, bem como antiinflamatória e antiarritmica. Além disso, Zwaving & Bos (1992) verificaram atividade antitumoral de alguns constituintes do óleo de cúrcuma.

Os extratos da cúrcuma demonstraram efeitos antiinflamatórios em estudos de inflamação induzida. Os curcuminóides inibiram edemas induzidos por carragena e formalina, de modo similar ao efeito da cortisona (Srimal et al., 1971). Os extratos etéreos mostraram atividade antiinflamatória e reduziram os

níveis de histamina em 50%, redução esta comparável ao efeito da hidrocortisona (Arora et al., 1971).

Alguns efeitos benéficos da cúrcuma, como ação antiinflamatória (Ghatak et al., 1972), e antibacteriana (Ramprasad et al., 1957), foram descritos. A curcumina tem influência benéfica em certas afecções hepáticas, estimula a secreção biliar favorecendo sua emissão no trato intestinal e ajuda a controlar o colesterol no sangue (Perotti, 1975).

De acordo com o Compêndio de Plantas Medicinais, a cúrcuma é utilizada como digestivo estomacal, ativador da função hepática e da secreção biliar, e na flatulência, também como normalizador das funções renais, do colesterol e na halitose. É usada também no tratamento de feridas, escaras, erisipelas e micoses.

No meio rural e nas cidades do interior é comum o uso da cúrcuma no tratamento do sarampo. Segundo o costume popular, o rizoma é macerado e aplicado no rosto, principalmente ao redor dos olhos, para impedir o aparecimento das feridas que deixariam marcas no rosto. É comum também ser utilizada, em forma de compressas, em ferimentos e picadas de insetos.

Ramaswamy & Banerjee (1948), relatam a ação antioxidante da cúrcuma, considerando-a compatível com a ação antioxidante do BHT, BHA e ácido cítrico. Em níveis de 0,5% a 1,0% a cúrcuma reduz consideravelmente a formação de peróxidos em óleo de amendoim durante testes de estabilidade (Rimpler et al., 1970).

As atividades antimicrobiana e antiprotozoária têm sido demonstradas pelos extratos de cúrcuma e seus componentes. O extrato etanólico da *Curcuma longa* L. inibiu o crescimento da maioria dos organismos em colecistites (Lutomski et al., 1974). Enquanto os curcuminóides foram bacteriostáticos contra *Staphylococcus* (Ramprasad & Sirsr, 1956b), os óleos essenciais

apresentaram atividade bactericida (Lutomski et al., 1974) e fungistática (Sawada et al., 1971). O extrato alcoólico também exibiu atividade antiprotozoária (Dhar et al., 1968).

Os efeitos dos extratos aquoso e alcoólico do óleo volátil e dos curcumióides isolados da *Curcuma longa* L. na secreção biliar em cães foram examinados por Ramprasad & Sirsi (1956 a). Enquanto o extrato aquoso não demonstrou efeito, o alcoólico aumentou a secreção biliar em 20% a 25%. Os curcuminóides, na forma de sais de sódio, produziram um aumento significativo na secreção biliar em 100% dos cães. Os óleos voláteis mostraram alguma ação colerética.

2.2.2 Composição Química do rizoma

O rizoma da *Curcuma longa* L. contém em média 1,3 a 5,5% de óleo essencial (Guenther, 1952); 2,8% a 6,0% (Mathai, 1976); no máximo 2,0% (Rupe, 1970) e de 1,0% a 5,0%, segundo Govindarajan (1980). O óleo é constituído por um composto principal (cerca de 59%), a turmerona, dehidroturmerona e de um percentual menor de cetonas aromáticas: zingiberena (25%), d-alfa-felondrena (1%), d-sabineno (0,6%), cineol (1,0%), borneol (0,5%) (Goodpasture et al, 1976; Kelkar et al., 1934; Khaliq et al., 1968).

Na figura 1 estão apresentados alguns compostos voláteis presentes no óleo de cúrcuma.

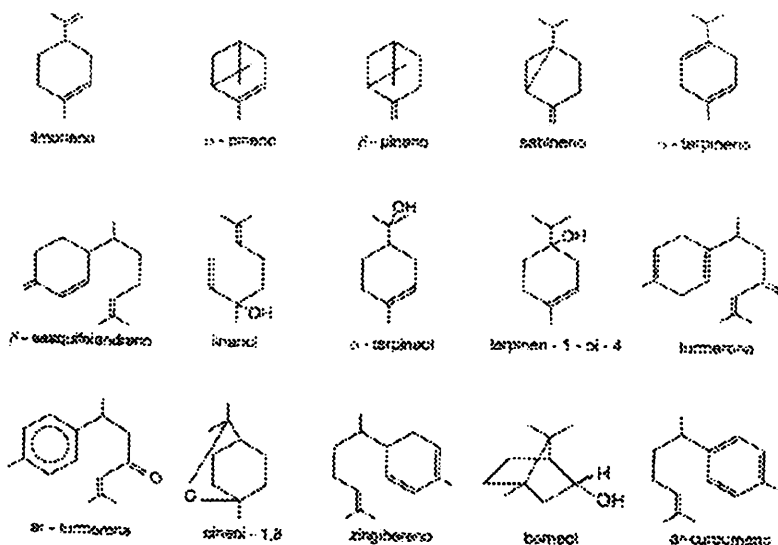


FIGURA 1. Estrutura de alguns compostos voláteis presentes na Cúrcuma

O rizoma possui 25,0% a 50,0% de amido, 4,0% a 10,0% de proteínas, 2,0% a 7,0% de fibras, 3,0% a 7,0% de cinzas, 9,0% a 19,0% de umidade (Govindarajan, 1980) e teor de curcumina (substância corante) de 2,5% a 8,1% (Mathai, 1979). A cúrcuma é a fonte mais rica em curcumina, contendo em média, 2,5% desse pigmento (Bhavanishakar & Sreenivasa Murthy, 1987).

Não há relação entre o conteúdo de óleo essencial e a curcumina. As diferenças no teor de curcumina devem-se ao local de plantio, práticas agrícolas, fertilização e maturidade dos rizomas. O teor de amido possivelmente se relaciona com a maturação (Govindarajan, 1980; Mathai, 1976).

Segundo Krishnamurthy et al. (1975), o conteúdo de curcumina no centro do rizoma é o dobro do teor da casca (córtex). Mangalacumary & Matheu (1996) estudaram a localização e a distribuição dos diferentes constituintes: curcumina,

óleo essencial, amido e polifenóis no interior dos rizomas de cúrcuma em relação ao grau de maturação e crescimento. Concluíram que curcumina e óleo essencial estão distribuídos por todo o rizoma. O amido é encontrado na parte central e os polifenóis estão localizados nos feixes vasculares e nas gemas dos rizomas.

O óleo volátil obtido pela destilação da cúrcuma em pó varia de amarelo-pálido a amarelo-alaranjado, com odor residual dos rizomas da cúrcuma. O aroma da cúrcuma é devido a cetonas sesquiterpênicas formadas por aproximadamente 59% de ar-turmerona (ou dehidroturmerona) e turmerona, numa proporção de 40% e 60%, respectivamente. Esses autores também detectaram cerca de 6% de álcool sesquiterpênico, mas não puderam purificá-lo. O óleo volátil da cúrcuma contém alfa-d-felandreno (1%), d-sabideno (0,6%), cineol (1%), borneol (0,5%), zingibereno (25%) e turmeronas(58%) (Krishnamurthy et al., 1976).

2.2.3 Caracterização química da curcumina

A curcumina é um pó cristalino, amarelo, inodoro, pertencente à classe diferoluilmetano e de fórmula empírica $C_{21}H_{20}O_6$. É pouco solúvel em água, éter de petróleo e benzeno; solúvel em etanol, metanol, ácido acético glacial e propileno glicol e muito solúvel em acetona e éter etílico. Na forma de pó fino pode ser dispersa em óleo (Perotti, 1975).

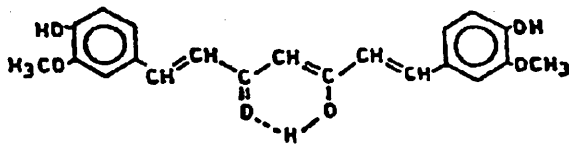
A cúrcuma contém ainda outros pigmentos, tais como a desmetoxicurcumina e bis-desmetoxicurcumina, que são separados, como a curcumina, durante cromatografia em coluna com sílica gel benzeno:metanol (80:6) como fase móvel. Estes constituintes reagem de maneira similar à curcumina com cloreto férrico e outros reagentes, sendo análogos estruturalmente. Enquanto a curcumina possui dois grupos metoxila (OCH_3), a

desmetoxicurcumina tem somente um e a bis-desmetoxicurcumina nenhum. Esses pigmentos apresentam fluorescência amarela sob luz ultravioleta. O espectro de fluorescência apresenta excitação a 434nm e emissão a 520nm. A curcumina, a desmetoxicurcumina e a bis-desmetoxicurcumina apresentam ponto de fusão de 184°, 173° e 224 °C, respectivamente. As absorções máximas desses componentes são 429, 424 e 419 nm, respectivamente, conforme ASTA, (1968); Krishnamurthy et al., (1976) e Govindarajan (1980). A prática usual de se expressar o total de cor como curcumina na região de 425 nm, justifica-se por propósitos práticos (Krishnamurthy et al., 1976).

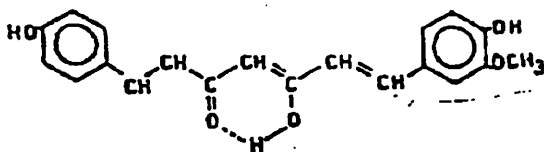
Na figura 2 estão apresentados os pigmentos curcumina, a desmetoxicurcumina e a bis-desmetoxicurcumina presentes na cúrcuma.

Perkin & Samuel (1904) descreveram um método para obter curcumina pura a partir de rizoma de cúrcuma, com rendimento de 0,65%, por precipitação com sal de chumbo e purificação por decomposição do sal.

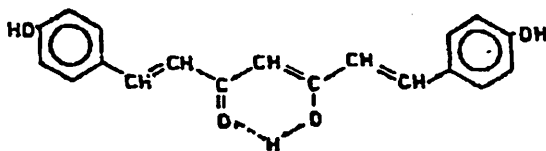
A reação mais característica da cúrcuma (e curcumina) é a cor avermelhada quando misturada com ácido bórico, e é usada como teste de identidade de cúrcuma (Takahashi, 1987). Segundo Janben & Gole (1984), a cor vermelha deve-se à formação de compostos chamados rubrocurcumina e roocianina. Extratos de cúrcuma apresentam fluorescência laranja quando misturados com ácido bórico, o que não acontece com a curcumina purificada.



CURCUMINA



DEMETOXI-CURCUMINA



BIS-DEMETOXI-CURCUMINA

FIGURA 2. Pigmentos da Cúrcuma

Fonte: Martins, et al., 1992

2.2.4 Toxicologia

A FAO/WHO publicou especificações para curcumina como corante para alimento e recomendações para a ingestão diária aceitável (IDA) de 0,01 – 0,1mg/kg de peso corpóreo. Para cúrcuma em pó, com conteúdo médio de 3,0% de curcumina, a IDA é de 2,5mg/kg de peso corpóreo (Codex Alimentarius Commission, 1983; WHO/FAO, 1974; WHO/FAO, 1986).

Em 1939, o Decreto número 10.295, do governo do Estado de São Paulo, regulamentou o uso de substâncias corantes, classificando a cúrcuma como vegetal inócuo.

A NTA-70, Norma Técnica de Alimentos, do Decreto 12.486 do estado de São Paulo, de 20/10/78, especifica a cúrcuma como condimento.

O Decreto 55871 de 1965 – Resolução 04 de 24/01/88 do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde, regulamenta o uso de aditivos intencionais em alimentos, assim como seus limites máximos. A cúrcuma, além de condimento, é aditivo intencional da classe dos corantes naturais, não tem limite de uso como corante natural e seu código de rotulagem é C.I.

Estudos toxicológicos mostraram que curcuminato de sódio tem baixa toxicidade e a curcumina causa aberração cromossômica em células de mamíferos embora não se conheça efeito similar *in vivo* (Goodpasture et al., 1976).

A cúrcuma e seus derivados (temperos), quando adicionados diretamente a culturas de células de hamster e ratos, promoveram mitose e alterações morfológicas de cromossomos, sugerindo interferência na progressão do ciclo das células. Esta tendência, entretanto, não foi observada *in vivo* (Bhavanishankar et al., 1986).

Ratos alimentados com cúrcuma (500mg/kg de peso corpóreo) e seu extrato alcoólico (60mg/kg de peso corpóreo) foram examinados por três gerações. Não se verificaram diferenças no índice de fertilidade, gestação, peso dos filhotes e lactação entre os animais alimentados e controle (Bhavanishakar, 1987).

2.2.5 Extração dos pigmentos

Janaki & Bose (1967) obtiveram curcumina cromatograficamente pura por extração com éter de petróleo (40°-60°C), seguida de extração com benzeno e cristalização em etanol, com rendimento de 1,1%.

Rajaraman et al. (1981) compararam dicloro etileno, acetato de etila e acetona na obtenção da oleoresina de diversos temperos por percolação a frio. Em relação à cúrcuma, concluíram que o rendimento de extração foi acetona > acetato de etila > dicloro etileno.

Krishnamurthy et al. (1976) utilizaram acetona, etanol e dicloro etileno na extração de oleoresina de cúrcuma por percolação a frio e em Soxhlet. O rendimento de extração foi acetona > etanol = dicloro etileno. Os dois métodos apresentaram boa recuperação de curcumina (>85%).

Os óleos voláteis e fixos, presentes na oleoresina, são responsáveis pelas características de aroma e amargor da cúrcuma e indesejáveis no produto final, podendo ser removidos por extração com solventes orgânicos, diferentes dos utilizados na preparação da oleoresina, por filtração ou centrifugação. O produto resultante é conhecido como cúrcuma sem amargor ou desengordurada (Govindarajan, 1980).

A oleoresina da cúrcuma é obtida por extração com solventes do pó de cúrcuma. A escolha destes solventes está condicionada à sua pureza e à permissão de uso por legislação vigente nacional e internacional para fins alimentícios (WHO, 1971). A eficiência da extração, a facilidade e a economia na recuperação do solvente, de modo a deixar níveis residuais mínimos no produto final, também são levadas em conta (EOA, 1967).

Álcool etílico e acetona têm sido indicados como bons solventes do pó de cúrcuma. A acetona apresenta alguns problemas com relação à inflamabilidade e alto custo de recuperação, entretanto tem sido o solvente mais utilizado. O uso de dicloro etileno tem a vantagem de ser mais seletivo, imiscível em água, não inflamável e apresentar ponto de ebulição relativamente baixo, porém, suas impurezas podem causar problemas “off-flavor” (Govindarajan, 1980).

Krishnamurthy et al. (1976) estudaram processos de extração dos curcuminóides da cúrcuma com acetona, álcool etílico e dicloro etileno. A extração em extrator soxhlet do pó de cúrcuma com acetona por 4 a 5 horas forneceu um produto contendo 42% de curcuminóides. A acetona foi um pouco mais eficiente que o etanol e dicloro etileno. Estes autores investigaram também o tamanho das partículas (30 e 60 mesh) e da temperatura de extração, e observaram que a produção de oleoresina e eficiência da extração foram maiores quando as partículas tinham tamanhos menores (60 mesh), tanto a quente (Soxhlet) como a frio (percolação).

Os pigmentos compõem cerca de 1/3 de uma boa oleoresina. Para o uso comercial, a oleoresina é misturada a um veículo ou solubilizada com propileno glicol, polisorbato ou óleo vegetal para tornar o manuseio mais fácil (Milan, 1992).

Em alguns alimentos, o aroma e sabor amargo da cúrcuma, devido à presença dos óleos volátil e não volátil, são indesejáveis. Assim, o hexano tem sido sugerido para remover o princípio amargo da cúrcuma sem afetar o conteúdo de curcuminóides (Govindarajan, 1980).

Sair & Klee, (1967) patentearam um processo para isolar curcumina da cúrcuma pela extração com solventes como hexano, heptano ou éter de petróleo. Após esta etapa, a amostra é submetida a uma nova extração com solventes como metanol, isopropanol, acetona e dicloro etileno, que retiram a oleoresina com pigmentos. A oleoresina deve, em seguida, passar por processo de remoção dos solventes utilizados.

Como a curcumina é insolúvel em água e éter, e solúvel em etanol e ácido acético glacial, uma maneira eficiente de se isolar os curcuminóides, segundo Govindarajan (1980), seria extraí-los da cúrcuma em pó com etanol a quente, lavar com éter de petróleo e cristalizar.

Um método de extração da curcumina apresentado por Zhang & Yang (1988) constitui na extração dos voláteis do pó de cúrcuma com vapor d'água, extração do pigmento com etanol, tratamento com éter de petróleo e purificação por cristalização. Para 100 kg de cúrcuma em pó foram obtidos 5 kg de curcumina. A curcumina ainda pode ser obtida por extração com solventes orgânicos, sem separação dos constituintes oleosos. O extrato seria tratado com álcali e a solução alcalina sofreria adição de ácido para precipitar o pigmento.

Vergheze (1989) isolou curcumina de rizomas de *Curcuma longa* L. por extração com acetato de etila, separação do solvente e extração do pigmento a 25 °C. A mistura de pigmentos proporcionou um rendimento de 2,77%, com um teor de curcumina de 90,42%.

O óleo volátil pode ser extraído utilizando-se solventes seletivos como hexano ou éter de petróleo. Também pode ser empregada a destilação por arraste de vapor, conforme descrito por Zhang & Yang (1988).

Krishnamurthy et al. (1976) utilizaram sílica gel em cromatografia em camada delgada (TLC) para separar os pigmentos da cúrcuma. A quantificação, neste caso, é muito demorada, pois é acompanhada da raspagem da mancha, redissolução, centrifugação ou filtração e medida da absorbância a 425nm.

Um método mais rápido para separação dos pigmentos da cúrcuma consiste em utilizar a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) com um detector de fluorescência como descrito por Tonnesen & Karlsen (1983). Esta metodologia oferece solução a problemas de decomposição fotoquímica e oxidativa. A decomposição fotoquímica é eliminada pois a separação ocorre em colunas em aço inox e a decomposição oxidativa é minimizada pois a separação ocorre com relativa rapidez e o oxigênio da fase móvel é removido por degaseificação. Rouseff (1988) utilizou coluna C18 de fase reversa como fase estacionária, pois os pigmentos de cúrcuma são razoavelmente hidrofóbicos e

são retidos na fase não polar. A fase água:tetrahidrofurano (THF) na proporção de 58:42 em fluxo isocrático (1 ml/min) possibilitou excelente resolução dos picos com uma separação rápida (10 min). O detector utilizado foi do tipo fluorescente.

A determinação quantitativa do óleo volátil é feita pelo método de Clevenger (AOAC, 1980) e a identificação, bem como a quantificação de seus componentes, por cromatografia gasosa. O método de Clevenger baseia-se na destilação do óleo volátil com vapor d'água e leitura direta do volume de óleo recolhido durante a destilação no tubo graduado do aparelho Clevenger. O resultado é expresso em ml/100g de amostra seca.

2.2.6 Estabilidade da curcumina

O pigmento (curcumina) tem baixa estabilidade à luz e é bastante estável ao calor (Auslander et al., 1977). Não há estudos publicados sobre o efeito da luz direta ou difusa sobre a curcumina e o mecanismo de mudanças induzidas pela luz também não foi estudado (Jackel et al., 1976). O grau de exposição à luz de produtos coloridos com curcumina deve ser considerado na utilização do pigmento. Soluções alcoólicas de curcumina apresentam coloração avermelhada em condições alcalinas na presença de ácido bórico (Perotti, 1975)

Em meio ácido (pH 4,5), a curcumina mantém uma cor amarela; a adição de álcali muda a cor para marrom-avermelhado. O pigmento é utilizado em química como indicador de mudança de pH (Burger, 1958). A cor e a absorvância decrescem rapidamente com o tempo quando o pH muda de 7,0 para 10,0. A absorvância se mantém constante entre pH 4,0 e 7,0 (Govindardajan, 1980).

Um estudo cinético da degradação da curcumina em relação a mudanças no pH foi apresentado por Tonnesen & Karlsen, (1985). Soluções de curcumina em metanol foram diluídas em tampões (pH 1,0 a 11,0) e incubadas a 31°C ao abrigo da luz. O teor de curcumina foi determinado em intervalos de tempo por HPLC. Constantes de degradação e meia vida do pigmento foram tabulados para diversos valores de pH. Em pH menor que 7,0, a reação de degradação é aproximadamente 100 vezes mais rápida na solução diluída, provavelmente devido à baixa solubilidade da curcumina nessa faixa de pH. A cinética da reação em todas as faixas de pH foi de segunda ordem e a forma da degradação da curcumina nas soluções aquosas indicou que diversos equilíbrios ácido-base estão envolvidos.

Para obter ótima estabilidade em preparações contendo curcumina, o pH deve ser menor que 7,0. O pigmento é instável a pH maior que 7,0 e sua meia vida a pH 5,97 foi $4,2 \times 10^3$ (Tonnesen et al., 1985).

2.2.7 Processamento da cúrcuma

A colheita dos rizomas da cúrcuma é feita manual ou mecanicamente quando a parte aérea da planta começa a secar, geralmente sete a oito meses após o plantio (Oliveira et al., 1992). Após o corte das folhas e caule, os rizomas são retirados da terra e lavados com água (Govindarajan, 1980).

É realizada, então, a cura, que consiste num processo de cozimento dos rizomas com água. De acordo com Govindarajan (1980), esta prática facilita o processo de secagem, por promover a gelatinização do amido e a difusão dos pigmentos (presentes em células) para o tecido vizinho, uniformizando a cor do produto. Alguns sais alcalinos, como o carbonato de sódio, têm sido adicionados à água (0,05% a 0,1%) de cocção com o objetivo de intensificar a cor desse produto.

A secagem dos rizomas é feita geralmente ao sol. O material cozido é espalhado em áreas cimentadas ou de terra batida e de tempos em tempos, os rizomas são revolvidos para garantir a uniformidade do processo. A secagem é lenta, de 10 a 15 dias, e os rizomas estão adequadamente secos quando estão duros e quebradiços. Processos de secagem utilizando secadores com circulação de ar promovem a secagem dos rizomas frescos em 75 horas e dos rizomas curados em 48 horas, à temperatura média de 65 °C (Govindarajan, 1980).

Krishnamurthy et al. (1975) estudaram a possível perda de voláteis no processo de cura. Amostras submetidas à cocção de 30 minutos a 3 horas, ao vapor por 20 minutos, em presença de carbonato de sódio 0,1% e ao descascamento ou fatiamento, foram comparadas com amostras não tratadas (controle). Os parâmetros utilizados para efeito de comparação foram taxa de secagem e conteúdos de umidade, óleo volátil e pigmentos. Dois processos de secagem foram utilizados: ao sol e em secador; contudo, não houve diferença significativa entre os teores de pigmentos e óleo volátil das amostras submetidas aos diferentes tratamentos. Com relação ao teor de umidade, o fatiamento forneceu um produto com teor mais baixo, o que é favorável para obtenção do pó da cúrcuma. O processo de cura, quando utilizado com o objetivo de diminuir o tempo de secagem e fornecer um produto (rizoma inteiro) de melhor aparência é desejável; quando o objetivo é a obtenção do pó de cúrcuma ou sua oleoresina, é dispensado (Govindarajan, 1980).

A cúrcuma encontra-se disponível comercialmente inteira (rizomas secos), moída (pó de cúrcuma) e como oleoresina. A forma inteira é estocada em sacos plásticos duplos. O pó de cúrcuma é empacotado a granel em recipientes de fibra de vidro ou de metal (latas) que evitam a perda da cor, dos óleos voláteis e não voláteis, e absorção de umidade. No varejo, o pó de cúrcuma é encontrado em embalagens de vidro ou plásticas. A oleoresina é estocada em

recipientes de polioleofinas, ao abrigo da luz e do calor, após homogeneização para garantir a uniformidade do produto (Souza, 1993).

2.2.8 Produtos de cúrcuma e aplicações

A cúrcuma é valorizada por sua cor amarela, atribuída aos pigmentos curcuminóides presentes e ao seu óleo volátil, rico em turmeronas (VIASAN et al., 1989). Dependendo da variedade, a cúrcuma pode apresentar cor que varia do amarelo-brilhante ao laranja-escuro. A variedade de cor amarelo-brilhante é apreciada nos Estados Unidos em formulações de pickles e pastas de mostarda. Já a variedade de cor laranja-escuro é preferida pelos imigrantes indianos e asiáticos em pratos típicos na Inglaterra (Govindarajan, 1980).

Três produtos de cúrcuma são comercialmente disponíveis:

- pó de cúrcuma seco: raízes secas, moídas, de cúrcuma contendo cor e aroma;
- oleoresina de cúrcuma: obtida por extração com solventes do pó de cúrcuma seco, com rendimento de cerca de 12%. É um produto altamente viscoso, marrom-alaranjado; tem de 30% a 40% de curcumina, 15% a 20% de óleo volátil, aroma característico da cúrcuma, fresco e pungente, e sabor residual amargo. Diluída para níveis de uso, obtém-se uma cor amarelo brilhante;
- extrato de curcumina purificado: corante sem aroma e sabor residual, concentrado por extração, com solventes, do pó de cúrcuma seco (Govindarajan, 1980 e Freund et al., 1988).

O pó de cúrcuma é um constituinte indispensável ao “curry” indiano (Govindarajan, 1980). Também é utilizado em pasta de mostarda e em condimentos. Nessas aplicações o aroma é desejável.

A oleoresina de cúrcuma é largamente utilizada em pickles, maionese, mostarda, revestimentos de filés de peixe congelado, produtos cárneos, massas alimentícias, bebidas não alcoólicas, gelatinas, manteiga, queijos, etc. A função é, predominantemente, colorir o produto (ABEA, 1984).

Em alguns casos como bebidas, gelatinas, queijos, manteiga, sorvetes e produtos de confeitaria, o aroma da cúrcuma é indesejável, sendo preferível utilizar a curcumina purificada (Perotti, 1975).

Andres (1981) apresenta a aplicação de cúrcuma como possível substituta da tartrazina, em níveis de 0,002% a 0,1%. A cúrcuma também é usada em combinação com páprica em muitos queijos processados e em produtos à base de gordura.

Uma composição contendo mistura de oleoresina de cúrcuma (0,006% – 3% em peso) em oleoresina de páprica (10% a 100% em peso) para colorir manteiga é citada por Jackel, (1976).

Uma preparação de um complexo de curcumina solúvel em água é relatada por Schranz (1983). Curcumina e gelatina são misturadas numa solução aquosa de ácido acético e submetidas a aquecimento a 80° – 85 °C. O complexo contém 15% de curcumina em peso e pode ser usado em diversos alimentos na forma líquida ou seca.

Goldscher (1979) patenteou a adição de glicina à curcumina, reduzindo seu sabor amargo. Assim, a mistura pode ser utilizada em alimentos e bebidas.

As propriedades funcionais desejáveis nas preparações com cúrcuma são:

- retenção de cor sem desenvolvimento de sabor residual durante estocagem e uso;
- tamanho de partículas finas na preparação de “curry” e pasta de mostarda;

- dispersibilidade e emulsificação da oleoresina e curcumina na preparação de pickles, maionese, queijo, etc.

A curcumina é insolúvel em água e, como muitos sistemas de alimentos contêm significativa quantidade de água, o pigmento não cobre esses sistemas sem algum tipo de emulsificante (Sastry, 1983). Para uso comercial, a oleoresina de cúrcuma é misturada com um solubilizante como propileno glicol, polisorbato ou óleo vegetal, para se obter um produto homogêneo e fluido (Govindarajan, 1980).

Para possibilitar a aplicação da curcumina em sistemas aquosos, Maing & Miller (1981) utilizaram solução aquosa de SnCl_2 a 1% para formar um complexo curcumina/Sn, numa razão de 4,6:1. Ao variarem as concentrações do metal, foram obtidas diferentes tonalidades do complexo curcumina-metal que pode ser utilizado como corante em alimentos, tais como bebidas, gelatinas, pudins, molhos e coberturas. Uma outra maneira de permitir a utilização da curcumina em alimentos aquosos foi proposta por Schranz (1983) que complexou a curcumina com gelatina na presença de ácido acético.

A adição individual ou em combinação de agentes mordentes (ácidos gáltico, gálico e tânico) e de agentes quelantes (polifosfato, ácido cítrico, citrato, etc.), para evitar a perda de cor nos alimentos, foi proposta por Obata et al. (1973).

Nos Quadros 2 e 3 estão descritos alguns produtos derivados de cúrcuma produzidos por empresas internacionais, encontrados no comércio como fonte de corante natural e possíveis substituintes de corantes artificiais.

QUADRO 2. Aplicações de produtos de cúrcuma miscíveis em óleo.

Produto	Obtenção do produto	Teor de curcumina	Aplicações	quantidade adicionada	Cor obtida no produto
Extrato de cúrcuma	Moagem da oleoresina com óleos vegetais e antioxidantes	8%	Óleos, cremes para saladas, alimentos oleosos	0,001% a 0,100%	Amarelo a amarelo-alaranjado
Extrato de cúrcuma purificado	Oleoresina purificada adicionada a óleos vegetais e antioxidantes	5% a 40%	Margarina, bolos, tortas, coberturas, biscoitos, queijos	0,001% a 0,050%	Amarelo a amarelo-alaranjado

Fonte: Bara, 1991

QUADRO 3. Aplicações de produto de cúrcuma em água

Produto	Obtenção do produto	Teor de curcumina	Aplicações	quantidade sugerida	Cor obtida no produto
Oleoresina de cúrcuma	emulsificação da oleoresina com polisorbatos	8% a 12%	picles e condimento	0,001% a 0,040%	amarelo a amarelo esverdeado
Extrato de cúrcuma purificada	emulsificação do extrato purificado com polipropilenoglicol e polisorbatos	8,8% a 9,0%	produtos de padaria, bebidas, sobremesas congeladas, doces, snacks, massas alimentícias	0,001% a 0,4%	amarelo a amarelo esverdeado
Extrato de cúrcuma em pó	emulsificação do extrato com propilenoglicol, polisorbatos, lecitina, dextrina e desidratação	2,5%	mistura seca de todos os tipos, sopas, drinks, bolos, pudins	0,010% a 0,100%	amarelo a amarelo esverdeado
Extrato de cúrcuma em pó	emulsificação do extrato purificado com propilenoglicol, polisorbatos e desidratação	30%	misturas secas, cereais, produtos de padaria, massas alimentícias, bebidas, sobremesas congeladas	0,010% a 0,015%	amarelo a amarelo esverdeado

Fonte: Bara, 1991

A comunidade europeia, à vista da ação que proíbe o uso de pigmentos sintéticos, é um mercado potencial para curcumina, havendo uma expectativa de aumento do uso de oleoresina de cúrcuma e curcumina purificada. Japão e Austrália, que seguem as tendências europeias, também são mercados potenciais.

A possibilidade de desenvolver e melhorar a qualidade de corantes derivados de cúrcuma representa, para o Brasil, fornecedor do rizoma de cúrcuma, uma excelente perspectiva de mercado.

2.3 Staphylococcus aureus

As doenças de origem alimentar nas quais o alimento contaminado constitui-se no mais importante veículo do agente patogênico, via oral e via de penetração do patógeno no organismo humano, podem ser subdivididas em duas grandes categorias: as intoxicações e as infecções alimentares.

Em queijos, dentre os microrganismos contaminantes mais frequentes está o *Staphylococcus aureus*, agente de intoxicação alimentar.

A contagem de *Staphylococcus aureus* em alimentos pode ser feita com dois objetivos diferentes: um relacionado com a saúde pública, para confirmar o envolvimento em surtos de intoxicação alimentar, e outro relacionado com o controle da qualidade higiênico-sanitária dos processos de produção de alimentos, condição em que o *S. aureus* serve como indicador de contaminação pós-processo ou das condições de sanificação das superfícies destinadas ao contato com alimentos. É importante ressaltar que alimentos submetidos a tratamento térmico, após um período de manutenção em condições que permitam o crescimento, podem não apresentar células viáveis de *S. aureus*,

destruídas pelo calor e, ainda assim, conter toxinas estafilocócicas, altamente resistentes ao calor.

2.3.1 Caracterização do microrganismo

As bactérias do gênero *Staphylococcus* podem ser caracterizadas como cocos gram-positivos, catalase positivos, normalmente beta-hemolíticos, que tendem a formar grupamentos característicos semelhantes a cachos de uvas. São amplamente distribuídos na natureza e fazem parte da microbiota transitória da pele e mucosas de mamíferos e aves.

Atualmente, cerca de 33 espécies de *Staphylococcus* são reconhecidas e, dentre elas, o *Staphylococcus aureus* permanece como sendo um patógeno comum na glândula mamária (Langlois et al., 1998). Tradicionalmente, o gênero é dividido em duas categorias: coagulases positivos e coagulases negativos. Essa divisão é baseada na capacidade de coagulação do plasma, que é uma propriedade considerada como importante marcador de patogenicidade dos estafilococos. Entretanto, as espécies coagulase-negativas também podem estar envolvidas em quadros de mastite (Hummel & Lehmann, 1994).

O gênero *Staphylococcus* possui capacidade de fermentar glicose anaerobicamente (Bergdoll, 1979). São anaeróbias facultativas, com maior crescimento sob condições de aerobiose, quando, então, produzem catalase.

A espécie *Staphylococcus aureus* é a que está mais frequentemente associada às doenças estafilocócicas, quer sejam de origem alimentar ou não.

As bactérias deste gênero são tolerantes a concentrações de 10% a 20% de NaCl e a nitratos, o que torna os alimentos curados veículos potenciais para as mesmas. A espécie *S. aureus* cresce na faixa de pH de 4,0 a 9,8, com ótimo entre 6,0 e 7,0.

Considerando a atividade de água (A_w), os estafilococos são únicos em sua capacidade de crescerem em valores inferiores aos normalmente considerados mínimos para as bactérias não-halófilas. O valor mínimo de A_w considerado atualmente é de 0,86, apesar de, sob condições ideais, esta bactéria já ter se desenvolvido em A_w de 0,83.

Os estafilococos são bactérias mesófilas apresentando temperatura de crescimento na faixa de 7 °C a 47,8 °C; as enterotoxinas são produzidas entre 10 e 46 °C, com ótimo entre 40° e 45 °C. Os extremos de temperatura estão na dependência dos demais parâmetros, que devem encontrar-se em condições ótimas. Os surtos de intoxicação alimentar são provocados por alimentos que permaneceram neste intervalo de temperatura por tempo variável, de acordo com o nível de inóculo e temperatura de incubação. Em geral, quanto mais baixa for a temperatura, maior será o tempo necessário para a produção da enterotoxina. Em condições ótimas, a enterotoxina torna-se evidente em 4 a 6 horas.

2.3.2 Enterotoxinas estafilocócicas

Staphylococcus spp, em especial *Staphylococcus aureus*, produzem uma ampla variedade de exoproteínas que contribuem para sua capacidade de colonizar e causar doenças em hospedeiros mamíferos. Quase todas as cepas secretam um grupo de enzimas e citotoxinas, as quais incluem quatro hemolisinas (alfa, beta, gama e delta), nucleases, proteases, lipases, hialuronidase e collagenase. A principal função destas proteínas é converter os tecidos locais do hospedeiro em nutrientes necessários ao seu crescimento. Algumas cepas produzem uma ou mais exoproteínas adicionais, as quais incluem a toxina da síndrome do choque tóxico, as enterotoxinas estafilocócicas (SE), toxinas esfoliativas e leucocidina. Cada uma destas toxinas é conhecida por seus potentes efeitos no sistema imune das células (Dinges et al., 2000)

Os estafilocócicos, além de serem considerados uns dos principais agentes causadores da mastite, estão diretamente relacionados com vários surtos de toxinfecções alimentares, devido à produção de toxinas termoestáveis, que são veiculadas por alimentos, mesmo após processamentos a altas temperaturas, representando um risco considerável para a saúde humana. Os sintomas destas toxinfecções (náuseas, diarreia, dores abdominais e vômito) devem-se à ação da toxina pré-formada no alimento ingerido (Silva et al., 2000).

O leite e produtos derivados, bem como outros alimentos de origem animal, estão sendo associados a surtos de toxinfecção alimentar. Resultados de pesquisas citam o envolvimento de queijo e leite mastítico, sendo que neste último alimento a toxina formada por estafilococo não produtor de pigmento havia sido detectada e descrita como o agente tóxico (Bergdoll, 1989).

Os membros do gênero *Staphylococcus* têm sido encontrados na pele e mucosas de vários animais (Bergdoll, 1989). Portanto, sua presença em linhas de processamento de alimentos tem sido considerada como um indicador de condições precárias de higiene. O *Staphylococcus aureus* e outras espécies de *Staphylococcus* incluindo *S. capitis*, *S. cohnii*, *S. equorum*, *S. haemolyticus*, *S. hyicus*, *S. intermedius*, *S. lentus*, *S. simulans*, *S. xylosus* (Valle et al., 1990) têm sido implicadas com a produção de enterotoxina. Entretanto, somente *S. aureus* tem sido considerado como o mais importante causador de intoxicação alimentar (Bergdoll et al., 1990). Aproximadamente metade das cepas de *S. aureus* é enterotoxigênica. Em análises microbiológicas de alimentos, o *S. aureus* coagulase positiva tem sido usado como um organismo indicador, apesar da produção de enterotoxina por espécies estafilocócicas coagulase negativa ter sido informada.

Existem, no mínimo, dez enterotoxinas imunologicamente diferentes produzidas por estafilococos; além disso, algumas toxinas são

imunologicamente desconhecidas, as quais são produzidas durante toda fase de crescimento. Estas enterotoxinas estafilocócicas são proteínas globulares de cadeia simples solúveis em água e com peso molecular entre 28.000 e 35.000 daltons (Bergdoll, 1980). Contêm muitos resíduos de lisina, aspartato, glutamato e tirosina em sua estrutura primária protéica (Bergdoll, 1990) e em sua forma biologicamente ativa elas são resistentes ao calor (termoestáveis) e enzimas proteolíticas (Bergdoll, 1989). As enterotoxinas estafilocócicas atuam como superantígenos e ativam sistemas de defesa humana quando causam intoxicações e outras doenças.

Atualmente são conhecidos seis grupos sorologicamente diferentes e envolvidos com toxinfecções alimentares, a saber: A, B, C (com os subgrupos C1, C2 e C3) e D, E e H. Entretanto, vários pesquisadores já demonstraram que espécies estafilocócicas coagulase negativas são produtoras potenciais de toxinas (Valle et al., 1990; Brabes, 1999).

As enterotoxinas são higroscópicas e facilmente solúveis em água e soluções salinas. Apresentam ponto isoelétrico entre 7,0 e 8,6, pico de absorvância a 277 nm e são resistentes a tripsina, miotripsina, renina, papaína e pepsina, com exceção da enterotoxina B, que é destruída por esta última enzima, em pH ao redor de 2,0.

Não existe concordância entre os vários autores sobre a quantidade mínima de enterotoxina necessária para causar sintomatologia em seres humanos. De maneira geral, estima-se entre 0,015 e 0,375 µg de enterotoxina por quilo de massa corpórea. Características individuais também devem ser levadas em consideração.

2.4 Ricota

A ricota é um queijo de origem italiana, fabricado em diversos países sob várias denominações. É conhecida também por queijo de albumina, por se constituir basicamente desta e de lactoglobulina, que são os principais componentes protéicos do soro e não são coaguláveis por coalho. São proteínas facilmente desnaturadas e precipitadas pelo calor, sob influência de acidificação, o que constitui o princípio básico da fabricação da ricota. Às vezes é comercializada somente após o processo de defumação (ricota defumada) ou de condimentação (ricota condimentada) (Furtado & Neto, 1994). Pode ser prensada ou cremosa em potes, podendo também, nestes casos, ser condimentada. Pelo seu baixo teor de gordura e alta digestibilidade, é considerada um produto leve e dietético, constituindo-se uma base importante para a arte culinária. No mercado, pode ser encontrada, ainda, uma ricota **culinária** em cujo processo de fabricação emprega-se creme de leite para torná-la mais cremosa (Furtado & Neto, 1994).

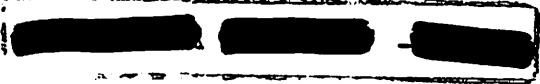
O rendimento médio da fabricação é de cerca de 4% a 5 %, e é um produto de pouca durabilidade.

Composição média esperada da ricota:

- umidade: 70% a 73%
- gordura: 4% a 6%
- pH: 4,9 a 5,3

Segundo Furtado & Neto (1994), alguns pontos críticos são observados na fabricação de ricota:

- a quantidade de ácido a adicionar pode variar em função de acidez e pH do soro, temperatura e intensidade de agitação;

- 
- o emprego de vapor direto no aquecimento do soro. A oclusão de ar nos flocos formados pela desnaturação protéica facilita a formação da camada de ricota à superfície do soro. Esta oclusão é influenciada pelo borbulhar do vapor no fundo do tanque;
 - o pH final é crítico, por afetar a propriedade da ricota de flocular à superfície ou precipitar para o fundo do tanque;
 - este pH pode variar de um processo para outro e deve, assim, ser determinado na prática. Está diretamente relacionado ao tipo e quantidade de ácido empregado. As exigências do mercado em relação a produtos mais nutritivos e saudáveis, particularmente no que se refere ao teor de gordura, estimulam a produção e criação de novos produtos, como a ricota cremosa, com consistência de patê, porém, sem adição de creme de leite.

2.5 Legislação

De acordo com o Regulamento Técnico de Identidade dos Queijos – Portaria número 146, do Ministério da Agricultura, os queijos são classificados de acordo com o conteúdo de umidade em percentagem (Lerayer et al., 1998). Conforme esta classificação, a ricota é considerada queijo de mais alta umidade, sem bactérias lácticas em forma viável e abundante, com umidade maior que 55%.

Na Tabela 1 encontram-se os requisitos microbiológicos para a ricota, considerando o seu percentual de umidade.

TABELA 1. Requisitos microbiológicos para queijos de mais alta umidade sem bactérias lácticas em forma viável e abundante (Umidade > 55%)

Microrganismos	Critérios de Aceitação	Categoria ICMSF
Coliformes/g (30°C)	n=5 c=2 m=100 M=1.000	5
Coliformes/g (45°C)	n=5 c=2 m=50 M=500	5
Estafilococos coag. pos./g	n=5 c=1 m=100 M=500	8
Fungos e Leveduras/g	n=5 c=2 m=500 M=5.000	2
<i>Salmonella sp</i> /25g	n=5 c=0 m=0	10
<i>Listeria monocytogenes</i> /25g	n=5 c=0 m=0	10

Fonte: Nova legislação de produtos lácteos e de alimentos para fins especiais, *diet, light* e enriquecidos, Lerayer et al. (1998), SP.

Os requisitos microbiológicos definidos nesta norma foram estabelecidos de acordo com critérios e planos de amostragem para aceitação de lotes da Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas dos Alimentos (ICMSF, 1980).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado na usina piloto e laboratórios de análises físico-químicas e microbiológicas da Escola Agrotécnica Federal de Inconfidentes e laboratório de laticínios do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras.

O experimento foi dividido em duas fases e em esquema fatorial 11x5x3. A primeira fase foi constituída de 11 concentrações de cúrcuma em pó, 5 períodos de armazenamento e 3 repetições; a segunda fase, 11 concentrações de sólidos no extrato alcoólico de cúrcuma, 5 períodos de armazenamento e 3 repetições. A primeira fase foi executada em duas etapas. Na primeira utilizaram-se as concentrações 0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% e 1,0% de cúrcuma em pó e na segunda, as concentrações 0,0%, 2,0%, 3,0%, 4,0%, 5,0% e 6,0%.

Na segunda fase do experimento, utilizando-se extrato alcoólico de cúrcuma, foram utilizadas as concentrações 0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8%, 1,0%, 2,0%, 3,0%, 4,0%, 5,0% e 6,0% de sólidos no extrato.

A cúrcuma utilizada foi proveniente do estado de Goiás, gentilmente cedida pela Universidade Federal de Goiás.

O pó de cúrcuma e o extrato alcoólico foram submetidos a teste de esterilidade e demonstraram a ausência de microrganismos capazes de formar colônias em ágar, durante 48 horas de incubação, à temperatura de 37° e 50 °C.

O extrato alcoólico da cúrcuma foi preparado na proporção de 1:6 (cúrcuma e etanol 92,8%) e deixado à temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) durante 24 horas. O extrato foi filtrado em papel de filtro e recolhido em frascos esterilizados, protegidos da luz e mantidos sob refrigeração segundo técnica descrita por Toso (2001).

3.1 Fabricação da ricota

O soro para fabricação da ricota resultou da fabricação de queijo Minas frescal e foi fabricada segundo técnica desenvolvida na usina da EAFI, conforme fluxograma apresentado na Figura 3.

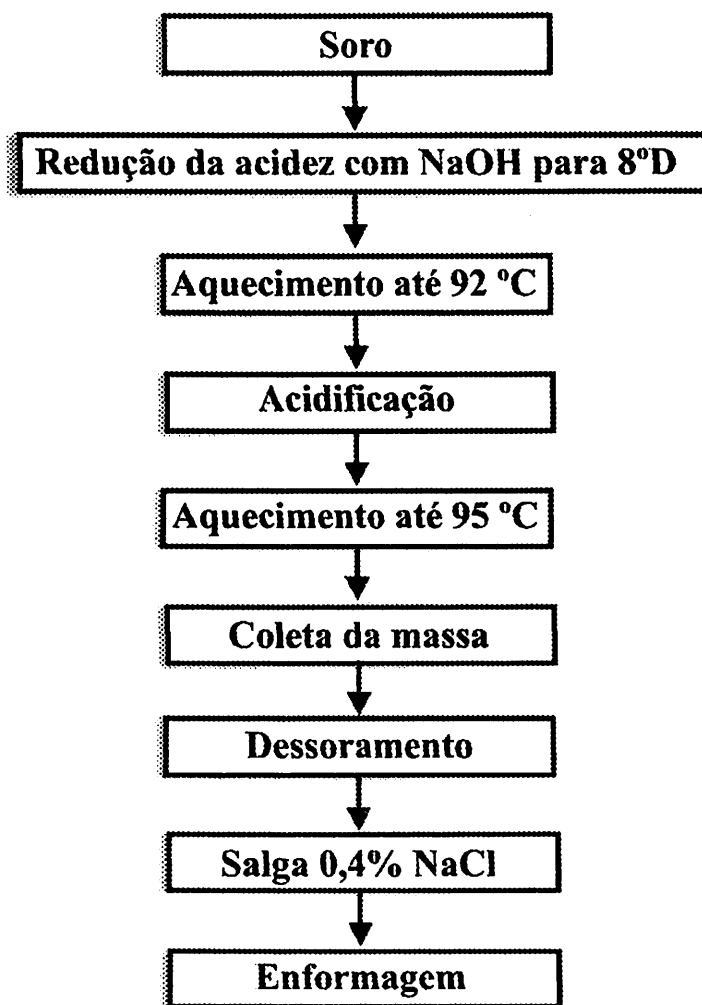


FIGURA 3. Fluxograma de fabricação da ricota.

As ricotas foram acondicionadas em potes plásticos com tampa e, após atingirem temperatura ambiente, foram submetidas a análises físico-químicas e condimentadas com o açafrão em pó ou o extrato alcoólico e inoculadas com a cultura de *S.aureus*. Após a condimentação e inoculação, foram mantidas sob refrigeração a 5 °C, por 21 dias, após o dia da fabricação para análises microbiológicas e de pH, a cada tempo, 0, 1, 7, 14 e 21 dias.

3.2 Análises físico-químicas realizadas do soro e das ricotas antes da inoculação e condimentação

3.2.1 Análises físico-químicas do soro

- Teor de gordura determinado pelo método butirométrico de Gerber utilizando butirômetro e centrifuga de Gerber, segundo Brasil (1996).
- Determinação de pH a 25 °C utilizando-se pHmetro previamente calibrado da marca Digimed.
- Determinação de acidez titulável em graus Dornic utilizando-se acidímetro Dornic, com solução de NaOH N/9 e solução alcoólica de fenolftaleína como indicador, como descrito por Brasil (1996).

3.2.2 Análises físico-químicas das ricotas

- Determinação do teor de gordura pelo método butirométrico de Gerber, segundo metodologia da A.O.A.C. (1995), utilizando-se centrifuga e butirômetro de Gerber .
- Determinação de pH a 25 °C utilizando-se pHmetro previamente calibrado da marca Digimed.

3.3 Microrganismo utilizado

Foi utilizada uma cultura de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach ATCC 12600 liofilizada, adquirida na Fundação Tropical André Tozello, em Campinas, SP.

3.4 Preparo do inóculo

A cultura de *Staphylococcus aureus* liofilizada foi reidratada em caldo BHI, por 24 horas, a 36 °C, em banho-maria.

A ativação da cultura após a reidratação foi feita também em caldo BHI (Merck) preparado de acordo com as recomendações do fabricante, com repicagens utilizando-se alça de platina, por três dias consecutivos. Durante a repicagem a cultura foi mantida em banho-maria à temperatura de 36 °C.

A cultura de *S. aureus* ativa foi repicada em caldo BHI e incubada em banho-maria a 36 °C. A cada 30 minutos durante 3 horas, foi feita a determinação do número de células de *S. aureus* por contagem direta em placas, utilizando-se o meio de cultura ágar BP (Baird Parker), acrescido de solução aquosa de telurito de potássio a 1% e emulsão de gema de ovo em solução salina a 0.85%. As placas, com o meio enriquecido, foram secadas em estufa a 36 °C, por 24 horas, antes de serem usadas para plaqueamento da cultura de *S. aureus*.

O plaqueamento dessa cultura foi em superfície utilizando-se 0,1 mL da cultura, nas concentrações de 10^{-1} a 10^{-4} . As placas foram incubadas em estufa a 36 °C por 24 horas e então, contadas as colônias formadas utilizando-se contador de colônias. Este procedimento foi realizado para verificação do tempo necessário de incubação da cultura a 36 °C em banho-maria, para obter a concentração de 10^4 UFC/mL.

Esta determinação de células foi usada para inoculação das ricotas após sua condimentação com cúrcuma em pó ou com seu extrato alcoólico.

3.5 Avaliação do efeito da cúrcuma em pó e do extrato alcoólico de cúrcuma no crescimento de *S. aureus*

Imediatamente após a inoculação, foram retirados 25g de amostra para contagem direta em placas, segundo ABNT (1991).

As demais amostras de ricota inoculadas com a cultura de *S. aureus* e condimentadas com as diversas concentrações de cúrcuma em pó foram armazenadas a 5 °C, por 1, 7, 14 e 21 dias após a fabricação para plaqueamento em ágar BP e observação do crescimento bacteriano. As contagens do número de colônias típicas (pretas com halo claro) foram feitas observando-se o limite de 25 a 250 UFC. A média dos resultados observados nas três repetições, com duplicatas, foi utilizada para traçar as curvas de crescimento do *S. aureus*

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises físico-químicas do soro

Na Tabela 2 estão apresentados os valores médios obtidos nas análises de acidez titulável, gordura e pH do soro utilizado para a fabricação das ricotas nos experimentos, utilizando-se cúrcuma em pó e extrato alcoólico de cúrcuma.

TABELA 2. Valores médios (desvio padrão) dos resultados de acidez titulável, teor de gordura e pH do soro utilizado para fabricação da ricota.

Itens	Valor (desvio padrão)
Acidez titulável (°D)	12,0 (0,2)
Teor de gordura (%)	1,2 (0,1)
pH	6,4 (0,2)

A acidez titulável do soro, segundo a literatura, varia de 11° a 14 °D de acidez, dependendo do tipo de queijo do qual esse soro é proveniente e da matéria-prima utilizada. O resultado obtido encontra-se dentro do esperado, pois o soro é proveniente da fabricação de queijo minas frescal, que possui acidez pouco accentuada.

4.2 Análises físico-químicas das ricotas no dia da fabricação

Os valores médios obtidos nas análises de gordura, pH e umidade das ricotas sem condimentação no dia da fabricação encontram-se relacionados na Tabela 3. Eles condizem com os valores encontrados na literatura e estão de acordo com a legislação vigente.

TABELA 3. Valores médios (desvio padrão) dos resultados de pH, teor de gordura e umidade da ricota antes da condimentação no dia da fabricação.

Itens	Valor (desvio padrão)
pH	5,45 (0,1)
Teor de gordura (%)	3,0 (0,3)
Umidade (%)	73,0 (2,0)

O teor de umidade obtido nas análises das ricotas encontra-se de acordo com a composição média esperada. A ricota é considerada “queijo de mais alta umidade sem bactérias lácticas em forma viável e abundantes, com umidade acima de 55%”, de acordo com o Regulamento Técnico de Identidade dos Queijos – Portaria número 146, do Ministério da Agricultura (Lerayer et al.,1998).

O resultado obtido nas análises de gordura encontra-se abaixo dos valores médios encontrados na literatura (4% a 6%), resultando em um produto mais leve. O teor de gordura influencia na solubilidade da cúrcuma em pó, que é insolúvel em água; porém, a redução de 1% não afetaria essa solubilidade, pois a ricota é considerada queijo magro, mesmo com teores mais altos de gordura.

O pH da ricota é um ponto crítico da sua fabricação, pois pode afetar a propriedade da ricota de flocular à superfície ou precipitar para o fundo do tanque. Este pH pode variar de um processo para outro e deve ser determinado na prática. Está diretamente relacionado ao tipo e quantidade de ácido empregado (Furtado & Neto, 1994). Portanto, a pequena variação de pH em relação à média esperada (4,9 a 5,3) provavelmente deve-se ao processo de fabricação utilizado e manteve-se dentro da faixa de crescimento do *S. aureus*, que é de 4,0 a 9,8. Assim, não afeta seu desenvolvimento durante o experimento.

4.3 Resultados de pH das ricotas condimentadas com cúrcuma em pó

Na Tabela 4 encontram-se os valores médios de pH das ricotas condimentadas com cúrcuma em pó, ao longo de 21 dias de estocagem. O pH foi avaliado durante todo o experimento, devido à importância desse fator no crescimento de microrganismos.

TABELA 4. Valores médios de pH da ricota condimentadas com cúrcuma em pó ao longo de 21 dias de estocagem.

Concentração de cúrcuma em pó (%)	Dias				
	0	1	7	14	21
0,0	5,45	7,20	6,96	6,90	6,20
0,2	5,66	7,23	6,02	5,94	6,03
0,4	5,37	6,96	6,13	6,52	6,18
0,6	5,69	6,82	6,26	5,63	5,87
0,8	5,60	6,34	6,04	6,20	5,56
1,0	5,89	6,37	6,12	5,79	5,92
2,0	5,79	6,24	6,24	6,86	6,35
3,0	5,66	6,29	6,06	6,24	6,10
4,0	5,93	7,11	6,31	6,37	6,09
5,0	5,86	6,46	6,35	6,29	5,96
6,0	5,83	7,12	6,20	5,65	5,50

4.4 Resultados de pH das ricotas condimentadas com extrato alcoólico

A Tabela 5 apresenta os valores médios de pH das ricotas condimentadas com extrato alcoólico de cúrcuma.

TABELA 5. Valores médios de pH da ricota condimentadas com extrato alcoólico de cúrcuma ao longo de 21 dias de estocagem.

Concentração de sólidos no extrato (%)	Dias				
	0	1	7	14	21
0,0	5,45	7,20	6,96	6,90	6,20
0,2	5,80	6,87	6,34	5,92	5,64
0,4	5,61	6,37	6,45	6,24	6,10
0,6	5,59	6,51	6,34	6,40	6,18
0,8	5,68	6,44	6,38	6,39	6,12
1,0	5,54	6,34	6,42	6,30	6,27
2,0	5,54	6,44	6,31	6,50	6,16
3,0	5,57	6,34	6,51	6,20	6,20
4,0	5,61	6,36	6,50	6,37	6,16
5,0	5,65	6,34	6,34	6,39	6,10
6,0	5,59	6,38	6,52	6,32	6,21

As ricotas foram estocadas à temperatura de 5 °C, visando diminuir a velocidade das reações químicas decorrentes do desenvolvimento dos microrganismos inoculados, principalmente variações de pH.

Tanto utilizando-se cúrcuma em pó quanto o extrato alcoólico de cúrcuma, observou-se aumento do pH durante o período de estocagem, o que acontece com queijos em processo de maturação. O pH atinge seu mínimo entre 24 horas a 2 ou 3 dias e, depois, eleva-se lentamente. A acidez aumenta muito nas primeiras horas ou dias de maturação e logo abaixa, devido às reações do ácido láctico com o cálcio e sais tamponantes presentes no queijo. Durante os experimentos, o pH atingiu a faixa ótima de desenvolvimento do *S. aureus* que está entre 6,0 e 7,0, (desenvolve-se entre 4,0 a 9,8) e, ainda assim, utilizando-se

o extrato alcoólico de cúrcuma houve inibição do crescimento do microrganismo.

4.5 Efeito da cúrcuma em pó no crescimento de *Staphylococcus aureus*

Pelos resultados obtidos não foi observado efeito inibidor do *S. aureus* pela cúrcuma em pó nas concentrações de 0,2%, 0,4%, 0,6%, 0,8% e 1,0%. Foi observado um aumento no número de células de *S. aureus* durante a incubação, sendo maior no sétimo dia após a fabricação (conforme Figura 4)

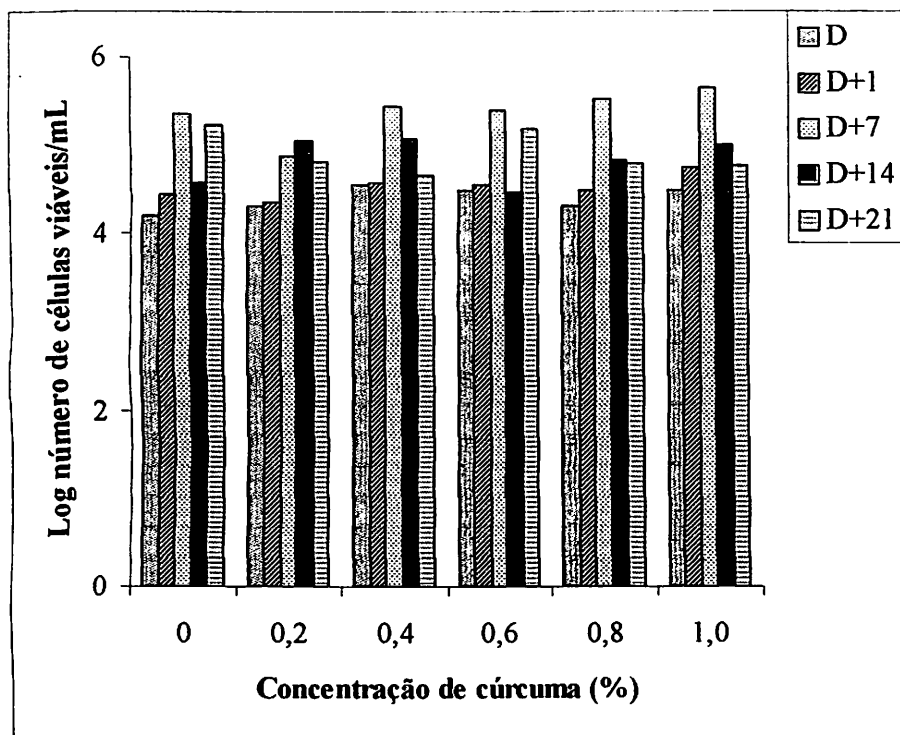


FIGURA 4. Número de células viáveis de *S. aureus* em ricotas condimentadas com cúrcuma em pó nas concentrações de 0,2% a 1,0%.

Segundo Shelef (1983), a concentração de condimento para a inibição do crescimento bacteriano está na faixa de 1,0% a 5,0%, o que poderia explicar a não inibição do *S. aureus* nas baixas concentrações de cúrcuma utilizadas.

Entretanto, utilizando-se concentrações de 2,0% a 6,0% de pó de cúrcuma foi observado crescimento bacteriano até 14 dias após a fabricação com queda após 21 dias. O mesmo comportamento foi observado no controle (0,0%) (conforme Figura 5).

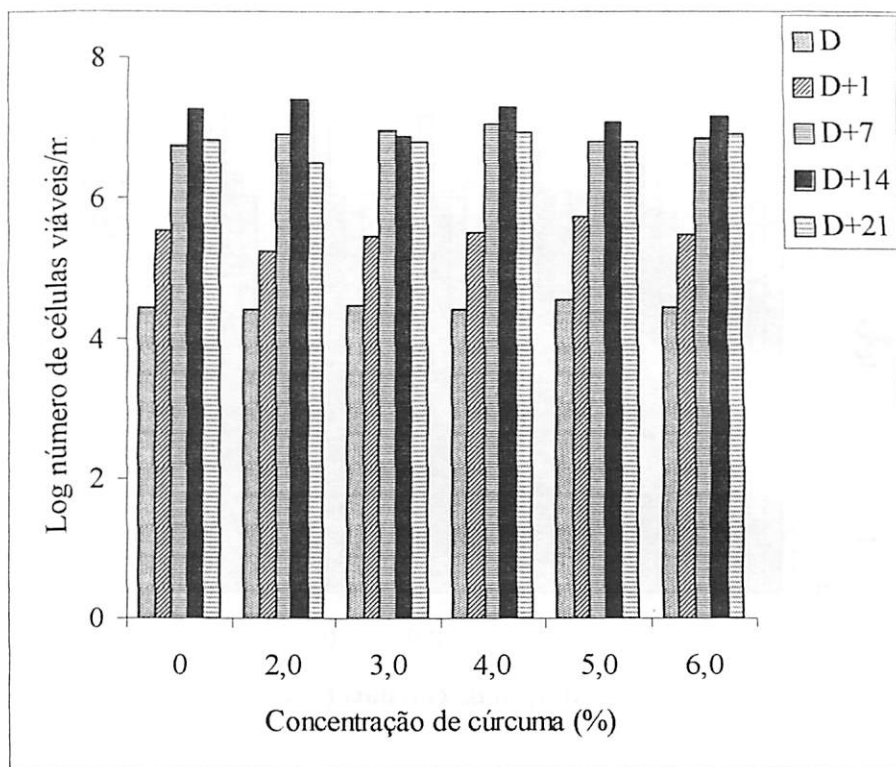


FIGURA 5. Número de células viáveis de *S. aureus* em ricotas condimentadas com cúrcuma em pó nas concentrações de 2,0% a 6,0%.

Na condimentação de um alimento, várias propriedades funcionais são importantes. Nas preparações com cúrcuma, a retenção de cor, dispersibilidade e emulsificação das partículas no meio são propriedades importantes. E como a curcumina é insolúvel em água e a ricota é um meio com elevado teor de umidade, o pigmento não cobre esse sistema sem algum tipo de emulsificante, indisponibilizando, assim, os princípios ativos presentes na cúrcuma. A indisponibilidade dos princípios ativos afeta a ação antibacteriana da cúrcuma.

Uma maneira de permitir a utilização da curcumina em alimentos aquosos foi proposta por Schranz (1983), que complexou a curcumina com gelatina na presença de ácido acético. Shinagawa et al. (1973), empregaram a curcumina em celulose para facilitar sua aplicação e dispersão em sistemas oleosos e aquosos.

4.6 Efeito do extrato alcoólico de cúrcuma no crescimento de *Staphylococcus.aureus*

O efeito inibidor do extrato alcoólico de cúrcuma, acompanhado pela contagem de colônias, mostrou atividade antimicrobiana evidente no controle de *S. aureus*. Nas concentrações de 0,2% e 0,4% não foi observado efeito sobre o crescimento de *S. aureus* diferente do tratamento controle (0,0%); houve crescimento até 14 dias após o dia da fabricação e pequena diminuição do crescimento após 21 dias.

Nas concentrações de 0,6% a 6,0%, o efeito inibidor foi acentuado. O extrato levou a uma elevada inativação bacteriana após um dia de fabricação com a concentração de 6,0%.

Com as concentrações de 1,0% e 2,0% houve inibição total aos 21 dias de estocagem; nas concentrações de 3,0% e 4,0%, a inibição completa do crescimento do *S. aureus* ocorreu aos 14 após a fabricação e com 5,0% de sólidos no extrato foi constatada inibição do crescimento com 21 dias após a fabricação (conforme Figura 6)

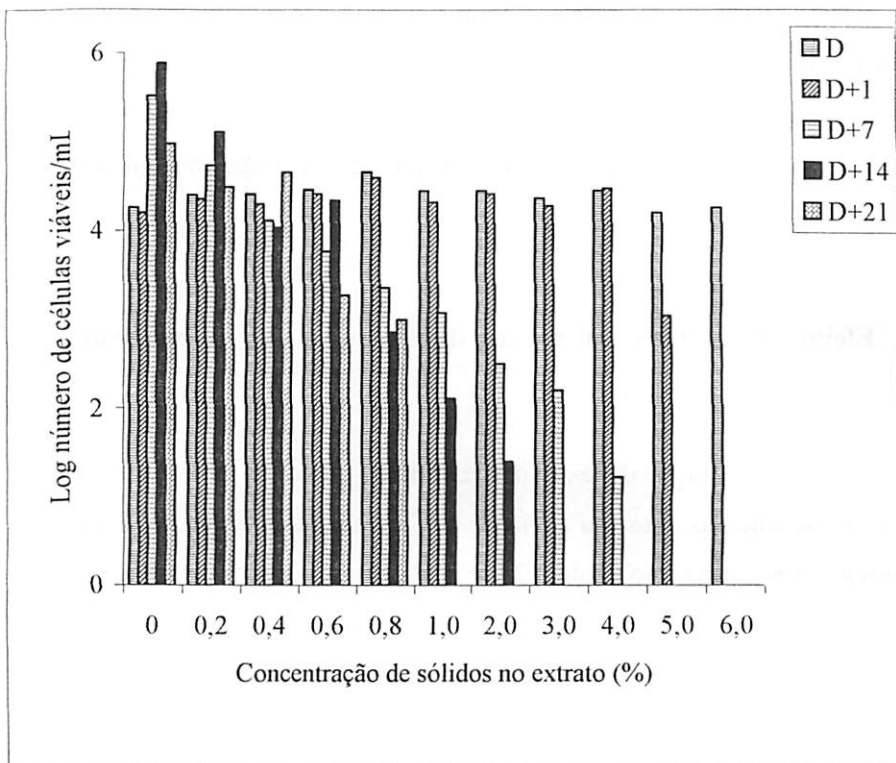


FIGURA 6. Número de células viáveis de *S. aureus* em ricotas condimentadas com extrato alcoólico de cúrcuma nas concentrações de 0,2 a 6,0%.

O comportamento do *S. aureus* não foi afetado pela presença de concentrações até 6,0% de etanol a 92,8% utilizado na obtenção do extrato de cúrcuma. Este resultado permite concluir que o efeito inibidor, detectado no extrato alcoólico avaliado, deve-se à presença dos princípios ativos do condimento, pois tanto a curcumina quanto os óleos essenciais são solúveis em álcool.

Vários estudos têm evidenciado que os princípios ativos dos condimentos localizam-se na fração de óleo essencial (Parry, 1962; Pruthi, 1980;

Farag et al., 1989). Os óleos essenciais dos condimentos são misturas complexas de diferentes compostos, que contribuem com as propriedades antimicrobianas (Pruthi, 1980). Os principais constituintes do óleo essencial de cúrcuma são o borneol e a turmerona, e, embora a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais tenha sido relatada em numerosos trabalhos, poucos estudos têm relacionado o mecanismo de ação destes produtos na célula microbiana. Estudos realizados por Farbood et al. (1976) demonstraram inibição acentuada do crescimento de *S. aureus* pelo extrato de alecrim que possui, assim como a cúrcuma, o borneol e o cineol como uns dos principais constituintes químicos dos seus óleos essenciais.

A concentração dos condimentos a ser usada também afeta a atividade antimicrobiana. Segundo Shelef (1983), a concentração de condimento para a inibição do crescimento bacteriano está na faixa de 1% a 5%. Entretanto as concentrações normalmente utilizadas com a finalidade de realçar o sabor e aroma dos alimentos variam de 0,5% a 1%, e não inibem o crescimento bacteriano. Portanto, é necessário determinar uma concentração ideal que exerça, simultaneamente, efeito antimicrobiano e intensificador do sabor e do aroma dos alimentos.

O uso do extrato alcoólico de cúrcuma proporcionou a obtenção de um produto de cor homogênea e textura uniforme, que evidenciou sua boa distribuição pelo meio, o que pode ter contribuído para o resultado positivo obtido em relação à inibição do *S. aureus*.

De acordo com os padrões microbiológicos estabelecidos (Lerayer et al., 1998), utilizando-se o extrato alcoólico com concentração de 2,0% de sólidos, o produto analisado durante o experimento atingiu o padrão exigido no sétimo dia após a fabricação. Com concentração de 1,0% de sólidos o padrão foi atingido no 14º dia após a fabricação.

A ricota, como a maioria dos queijos frescos, possui vida de prateleira muito reduzida. Portanto, técnicas alternativas que possam ser aplicadas comercialmente com o objetivo de aumentar a vida de prateleira desses produtos são de grande importância na viabilização de sua comercialização e desenvolvimento de produtos diferenciados em vários aspectos, como cor, sabor e textura.

Portanto, a possibilidade de uso de uma planta que não exige tratamentos culturais especiais e apresenta boa produtividade no Brasil, além de uma atividade antimicrobiana comprovada, abre novos caminhos para outros trabalhos, visando descobrir novos potenciais da cúrcuma, favorecendo assim a indústria alimentícia, produtores de cúrcuma e o consumidor.

5 CONCLUSÕES

Não houve inibição no crescimento de *Staphylococcus aureus* nas ricotas, nos 21 dias de estocagem do produto, utilizando-se a cúrcuma em pó.

O uso de concentração a partir de 3,0% de sólidos no extrato alcoólico de cúrcuma eliminou o *Staphylococcus aureus* com 14 dias de estocagem da ricota.

Utilizando-se 6,0% de sólidos no extrato alcoólico, houve total inibição do microrganismo com um dia de estocagem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE ENGENHEIROS DE ALIMENTOS) REGIONAL DO ESTADO DE SÃO PAULO. *Aplicação tecnológica de aditivos e nutrientes em alimentos*. São Paulo, 1984. 111 p.

AKGUL , A .; KIVANÇ, M . Inhibitory effect of selected Turkish spices and oregano components on some common Foodborne fungi. *International Journal Food Microbiology*, v. 6, p.263-268,1988.

AKTUG , S .E .; KARAPINAR, M. Inhibitory effect of linden Flower (Tilia flower) on the growth of foodborne Pathogens. *Food Microbiology*, v.4, p.97-100, 1987 .

AKTUG, S. E. ; KARAPINAR, M. Sensitivity of some common Food-poisoning bacteria to thyme ,mint and bay leaves. *International Journal Food Microbiology*, v.3, p.349-354, 1986 .

ALEMANHA. Pat. 2.348.004. P. G. Quesnel & A. Lambrow. Aromatic oleoresin emulsion. Citado por CHEM. ABSTRA., 81: P134856, 1974

AMMON, H. P. T.; Wahl, M. A. Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Medica*, v. 57, p. 1-7, 1991.

ANDRES, C. Natural food colors/blends in expanded range of hues. *Food Proceedings*, v.42, n.12, p.52, 1981.

ARORA, R.B. et al. Anti-inflammatory studies on *Curcuma longa* L. (turmeric). *Indian Journal of Medical Research*, New Dehli, v. 59, p. 1289-1291, 1971.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. *Official methods of analysis*. Washington, 1980. Cap.30, 1.018p

AUSLANDER, M. et al. Naturally occurring colorants, a stability evaluation. *Drug Cosmet Ind*, v.121, n.6, p.55-60, 1977.

AZZOUS, M.A. ; BULLERMAN, L.B. Comparative antimycotic Effects of selected herbs, spices, plant Components and antifungal agents. **Journal Food Protect**, v.45, p.1298-1301, 1982.

BAHK, J. ; MARTH, E. H. Growth and synthesis of Aflatoxin by *Aspergillus parasiticus* in the presence Of ginseng products. **Journal Food Protect**, v.46, p.210-215, 1983.

BANERJEE, A. ; NIGAM, S. S. Antifungal efficacy of the essential oils derived from the various species of genus *Curcuma*. **Journal of Research of Indian Medicine, Yoga and Homeopaty**, v. 13, p. 63-70, 1978 apud AMMON, H. P. T.; Wahl, M. A. Pharmacology of *Curcuma longa*. **Planta Medica**, v. 57, p. 1-7, 1991.

BARA, M.T.F. "Avaliação do efeito inibidor de condimentos no crescimento de *Yersinia. Enterocolitica*". Viçosa: Universidade Federal de Viçosa – UFV, 1991.

BAREL, S. ; YASHPHE, J. Effect of the essential Oil from *Achillea fragrantissima* on *Escherichia coli* Cells. **Current Microbiology**, v.19, p.337-341, 1989.

BENJILALI, B. et al. Method to study antimicrobial effects of Essential oils : application to the antifungal activity of six moroccan Essences. **Journal Food Protect**, v.47, p.748-752, 1984 .

BEUCHAT, L. R. Sensitivity of *Vibrio parahaemolyticus* to Spices and organic acids. **Journal Food Science**, v.41, p.899-902, 1976.

BHAVANISHANKAR, T. N. et al. Reproductive response of rats feed turmeric (*Curcuma longa* L.) and its alcoholic extract. **Journal Food Science and Technology, Mysore**, v.24, p.45-49, 1987.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n. 146, de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Poder Executivo**. Brasília, DF, 15 ago. 1996.



BUCHANAN, R. L.; SHEPHERD, A. J. Inhibition of *Aspergillus parasiticus* by thimol. **Journal Food Science**, v.46, p.976-977, 1981.

BULLERMAN, L. B. Inhibition of aflatoxin production by Cinnamon. **Journal Food Science**, v.39, p.1163-1165, 1974.

BULLERMAN, L. B.; LIEU, F. Y.; SEIER, S.A. Inhibition of growth and aflatoxin production by cinnamon and clove oils. Cinnamic aldehyde and eugenol. **Journal Food Science**, v.42, p.1107-1116, 1977.

BURGER, A. Curcuma root and its essential oil. v.49, p.801-802, 1958.

CHATTERJEE, P.B. Correspondence contribution. In: GOLOB, P.; WEBLEY, D. **Thuse of plants and minerals as traditional protectans of stored productas**. London: Tropical Products Institute, 1980.

CHOPRA, R. N.; GUPTA, J. C.; CHOPRA, G. S. Pharmacological action of the essential oil of *Curcuma longa*. **Indian Journal Med. Res.** v.29, p.769-772, 1941.

CHUNG, K. T.; THOMASSON, W.R.; WU-YUAN, C.D. Growth inhibition of selected food-borne bacteria, particularly *Listeria monocytogenes*, by plant extracts. **J. Appl. Bacteriol.**, v.69, p.498-503, 1990.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION – Food Additives, Rome, Joint FAO/WHO Food Standarts Programe, v.14, 508p. 1983.

CONNER, D. E. ; BEUCHAT, L. R. Effects of essential oils From plants on growth of food spoilage yeasts. **Journal Food Science**, v.49, p.429-434, 1984a.

CONNER, D. E. ; BEUCHAT, L.R. Sensitivity of heat – stressed yeasts to essential oils of plants. **Applied Environmental Microbiology**, v.47, p.229-233, 1984b.

CORREA, M. P. Açafroeira. In: _____. **Dicionário de plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1975.v.1, p.21-22.

DE WIT, J.C. et al. Effects of garlic and onion oil on toxin production by *C. botulinum* in meat slurry. **Journal Food Protect**, v.42, p.222-224, 1979.

DEANS, S.G.; RITCHIE, G. Antibacterial properties of plant essential oils. **International Journal Food Microbiology**, v.5, p.165-180, 1987.

DEANS, S.G.; SVOBODA, K.P. The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum marjorana* L.) volatile oil. **Flavor and Fragrance Journal**, v.5, p.187-190, 1990.

DHAR, M. L. et al. Screening of Indian plants for biological activity I. **Indian Journal of Experimental Biology**, New Delhi, v.6, p. 232-240, 1968.

DONALISIO, M.G. Instruções para o cultivo de cúrcuma. **O Agrônomo**, Campinas, v.32, p.171-175, 1980.

DZIEZAK, J.D. Spices. **Food Technology**, v.43, p.102-110, 1989.

ESSENTIAL OIL ASSOCIATION OF AMERICA. **Specification for oleoresin turmeric**, New York, n.271, 1967.

ESTADO DE SÃO PAULO. Decreto nº 10.295 de 1939. Regulamenta o uso de substâncias corantes.

ESTADO DE SÃO PAULO. Norma Técnica de Alimentos nº 70. Decreto nº 12.486 de 20 de outubro de 1978. Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas.

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 Food Science**, v.54, p.74-76, 1989.

FARBOOD, M. I.; MACNEIL, J.H.; OSTOVAR, K. Effect of rosemary spice extractive on growth of microorganisms in meats. **Journal Milk Food Technology**, v.39, p.675-679, 1976.

FREUND, R.P.; WASHAW, J.C. & MAGGION, M. Natural color for use in foods. *Cereal Foods World*, 33 (7), p.533-556, 1988.

FURTADO, M.M. & NETO, J. **Tecnologia de queijos: manual técnico para a produção industrial de queijos.** São Paulo, 1994.

GARG, S.C.; GARG, D.C. In vitro antibacterial activity of some essential oils. *Parfum . Kosmet*, v.61, p.219-220, 1980.

GHATAK, G. & BOSU, N. – Sodium curcumin as an effective anti-inflammatory agent. *Indian Journal Exper. Biology*, v.10, p.235-239, 1972.

GOLDSCHER, J.K. US Patent 4, 163, 803. 1979.

GOODPASTURE, G.E.; ARRHIGI, F.E. Effects of food seasonings on the cell cycle and chromosome morphology of mammalian cells in vitro special reference to turmeric. *Food Cosmetic Toxicol.*, v.14, n.1, p.9-13, 1976.

GOVINDARAJAN, V. S. Turmeric – chemistry, technology and quality. *CRC Critical Rev. Food Science Nut.* v.12, n.3, p.199-301, 1980.

GUENTER, E. Curcumin oils. In the essential oils. **Van Nostrand Reinhold**, New York, v.5, 507p., 1952.

GUIMARÃES, I.S.S. Corantes naturais vermelhos e amarelos. In: **Simpósio sobre Aditivos para Alimentos C.A.**, 1, Campinas, ITAL, p.21-31, 1987.

HALL, M. A.; MAURER, A. J. Spice extracts, lauricidin, and propylene glycol as inhibitors of *Clostridium botulinum* in turkey frankfurter slurries. *Poultry Science*, v.65, p.1167-1171, 1986.

HERBAL database [on line]. Disponível na internet via www.thehimalayadrugco.com/h-curcum.htm. 30 de novembro de 1999.

HITOKOTO, H. et al. Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. *Applied And Environmental Microbiology*, v.39, p.818-822, 1980.

HUHTANEN, C. N. Inhibition of *Clostridium botulinum* by Spice extracts and aliphatic alcohols. **Journal Food Protect**, v.43, p.195-196, 1980.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **Microorganisms for foods**. 2.ed. Toronto: University of Toronto, 1983. 436p.

ISMAIEL, A .A .; PIERSON, M. D. Inhibition of germination, Outgrowth, and vegetative growth of *Clostridium botulinum* 67B by spice oils. **Journal Food Protect**, v.53, p.755-758, 1990.

JACKEL, S.S.; HORN, M.J. Olcomagarine with yellow food coloring. US Patent. 3. 940. 504. 1976.

JANAKI,N.; BOSE, J.L. na improved method for the isolation of curcumine from turmeric. **Journal Indian Chem. Soc.**, v.44, p.985-986, 1967.

JANBEN, A. ; GOLE, T. Thin-layer chromatographic determination of curcumin (turmeric) in spices. **Chromatographia**, v.18, n.10, p.546-549, 1984.

JILANI, G. Quality improvement in basmati rice in aging process. In: _____ REGIONAL FIELD WORKSHOP ON RICE GRADING INSPECTION AND ANALYSIS. **Proceedings...** Pakistan, [s.n.], 1985.

KELKAR, N. C.; SANJEEVA RAO, B. Essential oil from the rhizomes of *Curcuma longa* L. **Indian Institute of Science Journal**, Bangalore, v. 17^A, p. 7-24, 1934.

KHALIQUE ,A.; DAS,N.R.. Examination of *Curcuma longa* L. Part II, Constituents of the essential oil. **Science Res.**, Dacca, v.5, p.44-49, 1968.

KRISHNAMURTHY, N. et al. Oil and oleoresin of turmeric. **Tropical Science**, v.18, n.1, p.37-45, 1976.

KRISHNASWAMY, M.A.; PATEL, J.D. & PARTHASARATHY, N. Enumeration of microorganisms in spices and spice mixtures. **Journal Food Technology**, 8 (4), p.191-195, 1971.

LAEKEMAN , G.M. et al. Eugenol a valuable compound for in vitro experimental reseach and worthwile for further in vivo investigation. **Phytoth Research**, v.4, p.90-96, 1990.

LERAYER, A. L. S. et al. **Nova legislação de produtos lácteos e de alimentos para fins especiais, diet, light e enriquecidos**. São Paulo: Fonte Comunicações, 1998. p.63-66.

LUCHESE, R.H. **Efeitos de condimentos e açucars no desempenho de culturas lácticas utilizadas na fabricação de salame**. 1987. 82p.Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

LUTOMSKI, J.; KEDZIA, B.; DEBSKA, W. Effect of na alcohol extract and active ingredients from *Curcuma longa* on bacteria and fungi. **Planta Medica**, v.26, n.1, p.9, 1974.

MAC NEIL , J. H.; DIMICK, P.S.; MAST, M.G. Use of chemical compouds and a rosemary spice extract in quality maintenance of deboned poultry meat . **Journal Food Science**, v.38, p.1080-1081, 1973.

MAING, Y.; MILLER, I. Curcumin – metal color complexes. Patent n. 25 637 Europe 1981a . In:_____ FRANCIS, F. J. **Handbook of food colorant patents**. Westport: Food & Nutrition Press, 1986, 163 p.

MAING, Y.; MILLER, I. Curcumin – metal color complexes. Patent n. 4 263 333 USA 1981b. In:_____ FRANCIS, F. J. **Handbook of food colorant patents**. Westport: Food & Nutrition Press, 1986, 163 p.

MANGALAKUMARY, C.K. ; MATHEU,A.G.. Localization o significant constituents o turmeric. **Journal Food ScienceTechnology**, v.23, p.93-96, 1996.

MATTADA, R.R.; SANKARAN, R.; THANGAMANI, J. & RAMANATHAN, I.A. Control of microbial contamination in spices. **Indian Journal Microbiology**, 14 (3), p.139-143, 1974.

MARTINS,M.C. et al. **Boletim da SBCTA**, Campinas, v.26, n.1, p.53-65, jan./jun. 1992.

MATHAI, C. K. The pattern of rhizome yield and their accumulation of commercially important chemical constituents in turmeric (*Curcuma spices*) during growth and development. **Qualitas. Plantarum Foods for Human Nutrition**, v. 28, n.3, p.219-225, 1979.

MATHAI, C. K. Variability in turmeric *Curcuma spices* germplasm for essential oil and curcumin. **Qual. Plant – Plant Foods Hum. Nutr.**, Netherlands, v. 28, n.3, p.227-230, 1976.

MILÁN, D. R.. Cúrcuma, produção e utilização como ingrediente e aditivo na indústria de alimentos. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, v. 1, n. 1, p. 248-249, 1992.

MISHRA, S. K; SAHU, K. C. Indian J. Pharmacol., v.22, p. A237, 1977 apud AMMON, H. P. T.; Wahl, M. A. Pharmacology of *Curcuma longa*. **Planta Medica**, v. 57, p. 1-7, 1991.

MORÁN, A. et al. Pharmacological screening and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia caerulascens* subsp. *gallica*. **Journal Ethnopharmacology**, v.26, p.197-203, 1989.

NADKARNI, K.M.; NADKARNI, A.K. **Indian Materia Medica**, Popular Prakashan, Bombay, 1976. In: GOVINDARAJAN, V.S. Turmeric – chemistry, technology and quality. **CRC Critical Reviews in food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.12, n. 3, p. 199-301, 1980.

NUNES, F. V. Cultivo da cúrcuma é fácil e lucrativo. **Manchete Rural**, Rio de Janeiro, v.29, p.60, 1989.

NYCHAS, G.J.E.; TASSOU, S.C.; BOARD, R. G. Phenolic extract from olives : inhibition of *Staphylococcus aureus*. **Applied Microbiology**, p.10. p.217-220, 1990.

OBATA, S.: et al.. Prevention of color loss in foods. Patent n. 73 014 941 Japan 1973. In: _____ FRANCIS, F. J. **Handbook of food colorant patents**. Westport: Food & Nutrition Press, 1986. 163 p.

OLIVEIRA, V.P.; GHIRALDINI, J.E.; SACRAMENTO, C.K. O cultivo de plantas produtoras de corantes. **Revista Brasileira de Corantes Naturais**, Vitória da Conquista, v. 1, n. 1, p. 233-237, 1992.

PARRY, J.W. **Spices: morphology, histology, chemistry**. New York: Chemical, 1962. v. 2, 183p.

PERKIN, A.G. ; SAMUEL, P. The molecular weights of hesperitin and curcumin. **Journal Cliem. Soc.** v.85, p.62-64, 1904.

PEROTTI, A. G. Curcumin – na useful vegetable colour not much well-known. **Industr. Alim.**, v.14, n. 6, p. 66-68, 1975.

PRUTHI, J.S. **Spices and codiments : chemistry , microbiology, technology** . New York : Academic, 1980. 449p.

RACCACH, M. ; HENNINGSEN, E.C . Role of lactic acid bacteria , curing salts , spices and temperature in controlling the growth of *Yersinia enterocolitica* **Journal Food Protect**, v.47, p.354-358, 1984.

RAJARAMAN, K. et al. Ethyl acetat as a solvent for extraction of spice oleoresins. **Journal Food Science Technology, India**, v.13, n.3, p.101-103, 1981.

RAMASWAMY, T.S. ; BONERJEE, B.N. Vegetable dyes as antioxidants of vegetable oil. **Ann Biochem Exptl. Med.**, India, v.8, p.55-59, 1948.

RAMPRASAD, C.; SIRSI, M. Observations on the pharmacology of *Curcuma longa*. Studies in indians plants *Curcuma longa* Linn. – Effects of curcumin and essential oil of *C. longa* on bile secretion. **Journal Science Res. Inst.**, v. 15, p. 212-216, 1956.

RAMPRASAD, C.; SIRSI, M. Observations on the pharmacology of *C. longa* L. – Pharmacodynamic and toxicological studies of sodium curcuminat. **Indian Journal Physiol. Pharmacol.** v. 1, p.136-140, 1957.

RIMPLER, M.H.; HAENSEL, R.; KOCHENDOEFER, L. L. Xanthorrhizol, cinneones Sesquiterpen aus *Curcuma xanthorrhiza*. **Z. Naturforsch.**, v.25, n.9, p.995-998, 1970.

ROUSEFF, L. High performance liquid chromatographic separation and spectral characterization of the pigments in turmeric and annatto. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 53, n. 6, p.1823-1826, 1988.

RUPE, H. Über Curcumaol, **Berichte der Deutschen Chem. Gesell.**, v.40, p.4909-4910, 1970.

SAFFORD, R. J.; GOODWIN, B. F. J. *Immunological studies on tartrazine*. **Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.**, Basel, v.77, n.3, p.331-336, 1985.

SAIR, L., KLEE, L. Debittering of turmeric. **Chemical Abstract**, Columbus (U. S. Patente, 3 340 250), v.67, p. 107522g, 1967. (Resumo).

SALMERON, J.; JORDANO, R.; POZO, R. Antimycotic and antiaflatoxigenic activity of oregano (*Origanum vulgare* L.) na thyme (*Thymus vulgaris* L.). **Journal Food Protect.**, v.53, p.697-700, 1990 a.

SALMERON, J.; JORDANO, R.; POZO, R. Influencia del pimentón (*Capsicum annum* L.) em el crecimiento y producción de aflatoxinas de *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus flavus*. **Alimentaria**, v.9, p.43-46, 1990b.

SAMBALIAH, K. et al. Influence of turmeric and curcumin on growth, blood constituents and serum enzymes in rats. **Journal Food Scienc Technology**, v. 19, p.187, 1982.

SASTRY, P.S. Curcumin content of turmeric. **Res. Ind** v.15, n.4, p.250-260, 1983.

SAWADA, T. et al. Evaluation of crude drugs by bioassay, III. Comparison with local variation of the contents and the fungistatic action of the essential oil from the roots of *Curcuma longa*. **Shoyakugaku Zasshi**, Tokyo, v. 25, n. 1, p.11, 1971.

SCHRANS, J. L. Coloring agents. Patent n. 4 368 208 Britain, 1983.
In: _____ FRANCIS, F. J. **Handbook of food colorant patents**. Westport:
Food & Nutrition Press, 1986, 163 p.

SHINAGAWA, K. et al. Yellow food coloring agent. Patent n. 79 163 866
Japan, 1979. In: _____ FRANCIS, F. J. **Handbook of food colorant patents**.
Westport: Food & Nutrition Press, 1986, 163 p.

SCHRANS, J.L. US. Patent 4,368, 208. 1983.

SHANKAR, T. N. B.; MURTHY, V. S. Indian Journal Exp. Biol., v. 17, p.
1363-1366, 1979 apud AMMON, H. P. T.; Wahl, M. A. Pharmacology of
Curcuma longa. **Planta Medica**, v. 57, p. 1-7, 1991.

SHELEF, L. A. Antimicrobial affects of spices. **Journal Food Safety**, v.6,
p.29-44, 1983.

SHELEF, L. A.; JYOTHI, E.K.; BULGARELLI, M. A. Growth of
enteropathogenic and spoilage bacteria in sage-containing broth and food
Journal Food Science, v.49, p.737-740,809, 1984.

SHELEF, L.A.; NAGLIK, O.A.; BOGEN, D.W. Sensitivity of some common
foodborne bacteria to the spices sage, rosemary and allspice. **Journal Food
Science**, v.45, 1042-1044, 1980.

SHIBASAKI, I. Food preservation with nontraditional antimicrobial Agents.
Journal Food Safety, v.4, p.35-58, 1982.

SHOLTO, DOUGLAS. J. Commercial Scitamineae- III Profitable turmeric
cultivation. **Flavour Ind.** 4,387-390. 1973.

SOUZA, C.R.A. *Cúrcuma*: caracterização, extração e estabilidade. 1993
Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)-Universidade Federal de
Minas Gerais, Belo Horizonte.

SREENIVASA MURTHY, V.; KRISHNAMURTHY, K. Place of spices and
aromatics in Indian dietary. **Food Science, Mysore**, v. 8, p. 284-288, 1959.

SRIMAL, R.C.; KHANNA, N.M.; DHAWAN, B.N. A preliminary report on antiinflammatory activity of curcumin. **Indian Journal Pharm.**, v.3, p.10, 1971.

SU, H.C.F.; ROBERT, H.; JILANE, G. Isolation purification and characterization of insect repellents from (*Curcuma longa* L.). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 30, 0. 290-292, 1982.

SUBBA RAO, D. et al. Effect of curcumin in serum and liver cholesterol levels in rats. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 100, p. 1307-1310, 1970.

TAKAHASHI, M. Y. **Monografias de corantes naturais para fins alimentícios: padrões e identidade**. 2.cd. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 1987. 118p.

TANK, R. et al., *Indian Drugs*, v. 27, n. 11, p. 587-589, 1990 apud HERBAL database [on line]. Disponível na internet via www.thehimalayadrugco.com/h-curcum.htm. 30 de novembro de 1999.

THARIB, S.M.; GNAN, S.O.; VEITCH, B.A. Antimicrobial Activity of compounds from *Artemisia campestris*. **Journal Food Protect.** v.46, p.185-187, 1983.

THOMPSON, D.P. Influence of pH on the fungitoxic activity of naturally occurring compounds. **Journal Food Protect.**, v.53, p.428-429, 1990.

TONNESEN, H.H. & KARLSEN, J.V. Alkaline Degradation of curcumin. **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**, v.180, n.2, p.132-134, 1983.

TONNESEN, H.H.; KARLSEN, J.V. Kinetics of curcumin degradation in aqueous solution. **Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung**. v.180, n.5 p. p.402-405, 1985.

TORRES, M.C.L. **Inibição de *Salmonella* por extrato de alecrim**. 1985. 36p. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

TOSO, M. Departamento de Engenharia de Alimentos – UFG. Goiânia. GO. comunicação pessoal. 2002.

VERGHESE, J. Isolation of the coloring matter from dried turmeric (*Curcuma longa L.*) with ethyl acetate. **Flavour Fragrance**, v.4, n.1, p.31-32, 1989.

VIASAN, A. C. et al. Chemical analysis of some cultivars of *Curcuma longa Linn.* **Journal of Food Science**, Chicago, v. 26, n. 5, p. 293-295, 1989.

WHO. Specifications for the identity and purity of some extraction solvents and certain other substances. **Who Food Additive Service**, n.70, p. 40, 1971.

WHO/FAO Turmeric and Curcumin in Evaluation of certain food additives. **FAO Nutrition Meeting Reports**. Rome, 1974. n.54, 40 p.

WHO/FAO Turmeric and Curcumin in Specifications for identity and purity of certain food additives. **FAO Food and Nutrition**. Paper 37, Rome. 1986. 152p.

WHO/FAO Turmeric in Specifications for the identity of some food colors, flavor enhancers, thickening agents and certain food additives. **Who Food Addit. Ser.**, Geneva, v.7, n.75, 1976. 46p.

ZAICA, L.L.; KISSINGER, J.C. Effects of some spices on acid Production by stirred cultures . **Journal Food Protect.**, v.42, p.572-576, 1979.

ZAICA , L.L.; KISSINGER, J.C. ; Inhibitory and stimulatory effects of oregano on *Lactobacillus plantarum* an *Pediococcus cerevisiae*. **Journal Food Science**, v.46, p.1205-1210, 1981.

ZAICA , L.L.; KISSINGER, J.C.; WASSERMAN, A.E. Inhibition of lactic acid bacteria by herbs . **Journal Food Science**, v.48, p.1455-1459, 1983.

ZHANG, L., YANG, Z. CN patent n.87 101 355, 1988. In: MARTINS, M.C., RUSIG, O. *Curcuma*: um corante natural. Boletim da SBCTA, Campinas, v. 26, n.1. p.53-65, 1992.

ZWAVING, J. H.; Bos, R. Analysis of the essential oils of five *Curcuma* species. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 7, p. 19-22, 1992.