

Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos

Antibacterial property of spice essential oils on food contaminating bacteria

Vinicius Nogueira TRAJANO^{1*}, Edeltrudes de Oliverira LIMA¹,
Evandro Leite de SOUZA², Antônio Eustáquio Resende TRAVASSOS³

Resumo

As especiarias são conhecidas por exercerem uma estabilidade frente à ação de microrganismos, estando inseridas no grupo dos alimentos estáveis. Esta propriedade conservante das especiarias está relacionada com a presença de compostos antibacterianos na sua composição. Tais compostos podem ser usados no combate a bactérias deteriorantes de alimentos, por esse motivo, este trabalho visa à investigação da propriedade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Coriandrum sativum* L., *Cuminum cyminum* L., *Mentha. piperita* L., *Ocimum basilicum* L., *Origanum majorana* L., *Pimpinella anisum* L., *Piper nigrum* L., *Rosmarinus officinalis* L. e *Zingiber officinalis* Rosc. frente a bactérias contaminantes de alimentos. Para esse estudo, foram selecionadas 10 cepas bacterianas deteriorantes de alimentos. Para a realização dos ensaios antibacterianos, foi utilizado o método de difusão em meio sólido. Os resultados mostram que os óleos essenciais das folhas do *E. caryophyllata* e da *C. zeylanicum* mostraram uma eficiência na inibição de todas as cepas bacterianas ensaiadas. Os outros óleos produziram atividade antibacteriana, porém com menor espectro de ação. A pesquisa de tais produtos mostra-se bastante promissora, sendo essa uma boa alternativa para a substituição de aditivos químicos em alimentos.

Palavras-chave: especiarias; óleos essenciais; propriedade antimicrobiana.

Abstract

Spices are known for their stability against microbial action; that being so, they are included in the group of stable foods. This preservative property of spices is related to the presence of antibacterial compounds in their composition. Such compounds could be used to control the food contaminating bacteria. This study aimed to assess the antimicrobial property of the essential oils from *Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Coriandrum sativum* L., *Cuminum cyminum* L., *Mentha. piperita* L., *Ocimum basilicum* L., *Origanum majorana* L., *Pimpinella anisum* L., *Piper nigrum* L., *Rosmarinus officinalis* L., and *Zingiber officinalis* Rosc. against food related bacteria. Therefore, 10 species of degenerating food bacteria were selected. The solid medium diffusion procedure was used to carry out the antimicrobial assays. The results showed that essential oils from *E. caryophyllata* and *C. zeylanicum* are efficient in inhibiting all assayed bacterial strains. The other assayed oils presented some antibacterial activity but with smaller action spectrum. The research of the antimicrobial activity of the essential oils is quite promising, and it is a possible alternative for replacing food additives.

Keywords: spices; essential oils; antimicrobial property.

1 Introdução

As especiarias e seus derivados têm sido usados no preparo de alimentos há milhares de anos, conferindo-lhes sabor e aroma diferenciados (KIM et al., 1995). Determinadas especiarias, no antigo Egito, foram empregadas em processo de embalsamamento; em muitos países são usadas para fins medicinais; e, em locais de clima quente onde falta refrigeração, têm sido utilizadas para melhorar os aspectos organolépticos de carnes durante seu armazenamento (BEDIN; GUTKOSKI; WIEST, 1999).

As especiarias são conhecidas por exercerem uma estabilidade frente à ação de microrganismos, estando inseridas no grupo dos alimentos estáveis (LIMA, 2002). Observa-se que as especiarias, inicialmente, são possuidoras de uma alta

carga microbiana e apresentam, com o decorrer do tempo, um crescimento lentificado de sua população ou mesmo, em alguns casos, uma total supressão da população microbiana (GERHARDT, 1990; KRAMER, 1997).

A ação inibitória das especiarias e de seus óleos nos diferentes microrganismos tem sido relatada em diversos estudos (OATTARA et al., 1997). O interesse renovado no uso de especiarias como agentes antibacterianos é atribuído basicamente a duas razões: a segurança dos aditivos químicos é constantemente questionada, havendo uma tendência ao uso de substâncias naturais de plantas, e a redução do sal ou do açúcar em alimentos por razões dietéticas tende a aumentar o uso de outros temperos (ISMAIEL; PIERSON, 1990).

Recebido para publicação em 13/11/2007

Aceito para publicação em 14/1/2008 (003003)

¹ Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba – UFPB, Cidade Universitária, CEP 58051-900, João Pessoa - PB, Brasil.
E-mail: trajanovinicius@hotmail.com

² Departamento de Nutrição, Universidade Federal da Paraíba – UFPB, Cidade Universitária, CEP 58051-900, João Pessoa - PB, Brasil

³ Departamento de Tecnologia Rural, Universidade Federal da Paraíba – UFPB, CEP 58220-000, Bananeiras - PB, Brasil

*A quem a correspondência deve ser enviada

A literatura científica na área da ciência e tecnologia de alimentos tem mostrado, nos últimos anos, um enfoque no estudo do potencial antimicrobiano das especiarias considerando a sua inclusão nos chamados sistemas de bioconservação de alimentos. A bioconservação de alimentos é um sistema de preservação amplamente aceito, sendo referido como um procedimento natural capaz de prover a extensão da vida útil e satisfatória segurança microbiológica de alimentos (FIORENTINI et al., 2001; RISTORI; PEREIRA; GELLI, 2002; UTAMA et al., 2002).

Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar a ação antibacteriana de óleos essenciais de especiarias frente a algumas cepas bacterianas patogênicas e/ou deteriorantes de alimentos.

2 Material e métodos

2.1 Bactérias

Foram utilizadas como microrganismos testes cepas de *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 4362), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7664), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Salmonella enterica* (ATCC 6017), *Serratia marcescens* (ATCC 13880) e *Yersinia enterocolitica* (ATCC 9610). As cepas de bactérias foram mantidas em Ágar Nutriente à temperatura de 35-37 °C (BAUER et al., 1966; GREGER; HADACEK, 2000). Para a realização dos ensaios antimicrobianos foram utilizadas culturas bacterianas *overnight*, sendo, a partir deste material, preparadas suspensões das cepas testes em solução salina (NaCl a 0,85% p/v) estéril, as quais foram padronizadas de acordo com a turbidez do tubo 0,5 da escala McFarland correspondendo a aproximadamente 10⁸ Unidades Formadoras de Colônia por mililitro (UFC.mL⁻¹).

2.2 Óleos essenciais

Os vegetais dos quais foram extraídos os óleos essenciais inseridos no presente estudo estão listados na Tabela 1. Os óleos essenciais foram obtidos da Empresa Ferquima Ind. e Com. Ltda. (Vargem Grande Paulista, São Paulo, Brasil), sendo obtido por extração por arraste de vapor. Esses produtos tiveram seus parâmetros de qualidade (coloração, pureza, odor, densidade

a 20 °C e índice de refração a 20 °C) descritos em um relatório técnico enviado pela empresa.

2.3 Avaliação antibacteriana dos óleos essenciais

Para a análise da ação antibacteriana dos óleos essenciais, foi utilizado o procedimento de difusão em meio sólido desenvolvido por Bauer et al. (1966). Em placas de Petri estéreis, foi inoculado 1 mL da suspensão de cada bactéria, em seguida foram adicionados 21 mL de Ágar Nutriente fundido a 50 °C. Logo após a solidificação do meio de cultura, foram depositados discos de papel de filtro embebidos com 20 µL de cada produto em análise (óleo essencial na concentração absoluta) e o sistema foi incubado a 37 °C por 48 horas (GREGER; HADACEK, 2000). Foi considerado como possuidor de atividade antimicrobiana aquele produto que apresentou a formação de um halo de inibição igual ou superior a 10 mm de diâmetro (WONG-LEUNG, 1988).

3 Resultados e discussão

Na Tabela 2 encontram-se os resultados obtidos no presente estudo indicando que todos os 11 óleos essenciais de especiarias, com exceção do óleo de pimenta preta, possuem atividade antibacteriana. Também podemos observar que alguns óleos essenciais têm um espectro de ação maior em relação a outro, a exemplo dos óleos de *C. zeylanicum* e *E. caryophyllata* que inibiram todas as bactérias testadas com formação de halos de inibição de até 30 mm de diâmetro.

López et al. (2005) estudaram a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais do cravo e canela sobre diversos microrganismos contaminantes de alimentos e observaram que ambos os óleos apresentaram uma excelente ação antibacteriana e antifúngica. Esses autores também observaram que os óleos tiveram uma potência maior para os fungos, seguido das bactérias Gram positivas, sendo *P. aeruginosa* a bactéria que apresentou maior resistência ao óleo essencial.

Smith-Palmer, Stewart e Fyfe (1998) observaram a atividade bacteriostática dos óleos essenciais de *C. zeylanicum* e *E. caryophyllata* sobre *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, também foi relatado que bactérias Gram

Tabela 1. Informação sobre os óleos essenciais de especiarias analisadas no estudo.

Nome científico	Família	Parte utilizada	Nome vulgar
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Blume	Lauraceae	Folhas	Canela
<i>Coriandrum sativum</i> L.	Apiaceae	Partes aéreas	Coentro
<i>Cuminum cyminum</i> L.	Apiaceae	Sementes	Cominho
<i>Eugenia caryophyllata</i> Thumb	Myrtaceae	Folhas	Cravo
<i>Mentha piperita</i> L.	Lamiaceae	Folhas	Hortelã
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Lamiaceae	Folhas	Manjeriço
<i>Origanum majorana</i> L.	Labiataeae	Folhas	Manjerona
<i>Pimpinella anisum</i> L.	Umbelliferae	Folhas	Anis
<i>Piper nigrum</i> L.	Piperaceae	Sementes	Pimenta preta
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Labiataeae	Partes aéreas	Alecrim
<i>Zingiber officinalis</i> Rosc.	Zingiberaceae	Raiz	Gengibre

Tabela 2. Screening dos óleos essenciais frente às bactérias deteriorantes de alimentos (resultados expressos em diâmetro em mm do halo de inibição do crescimento microbiano).

Óleos essenciais	Bactérias									
	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>K.pneumoniae</i>	<i>L.monocytogenes</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. enterica</i>	<i>S. mercencens</i>	<i>Y. enterocolitica</i>
Halos de inibição (mm)										
<i>C. zeylanicum</i>	17	18	30	27	20	20	20	25	15	28
<i>C. sativum</i>	16	13	15	0	0	0	15	0	0	13
<i>C. cyminum</i>	15	30	15	0	0	14	0	25	0	15
<i>E. caryophyllata</i>	22	28	25	26	25	14	25	26	18	20
<i>M. piperita</i>	16	12	0	0	0	15	14	15	0	15
<i>O. basilicum</i>	0	0	13	0	0	12	0	0	0	0
<i>O. majorana</i>	16	25	0	0	15	0	11	0	20	0
<i>P. anisum</i>	0	0	11	15	13	13	0	0	0	15
<i>P. nigrum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>R. officinalis</i>	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Z. officinalis</i>	0	0	0	0	0	0	15	0	0	0

positivas foram mais sensíveis à inibição por esses óleos que as bactérias Gram negativas.

Os óleos de *M. piperita* e de *C. cyminum* também tiveram uma interessante atividade inibitória do crescimento bacteriano, inibindo a maioria das cepas testadas. Já o óleo de *P. anisum*, *O. majorana* e *C. sativum* possuíram efetividade de inibição do crescimento de ação sobre 5 das cepas bacterianas ensaiadas.

Mimica-Dukić et al. (2003) pesquisaram a atividade antimicrobiana e antioxidante de *M. piperita* e observaram que o vegetal teve uma ação bacteriostática especialmente frente a *E. coli*. Apesar da moderada ação bacteriostática do óleo de *M. piperita* neste estudo, não foi observada atividade antibacteriana deste óleo contra a cepa de *E. coli*. Os resultados obtidos neste trabalho estão compatíveis com aqueles apresentados por Sagdiç e Ozcan (2003). Em seus estudos sobre atividade antibacteriana de especiarias obtidos na Turquia, observaram uma baixa atividade antibacteriana nos óleos de *C. cyminum* e *P. anisum*, sendo o primeiro ativo contra *E. coli* O157:H7.

Deans e Svoboda (2006) em um estudo sobre a atividade antimicrobiana do óleo de *O. majorana* sobre 25 bactérias e 5 espécies fúngicas, mostraram um poder inibitório sobre considerável número de bactérias, como *S. aureus*. Apesar dos bons resultados obtidos por esses autores e nossos resultados, a atividade antibacteriana do óleo de *O. majorana* foi baixa, porém foi observada a ação deste óleo sobre a cepa de *S. aureus*. Delaquis et al. (2002) estudaram a atividade antibacteriana do óleo essencial do *C. sativum* e contataram que esse tinha efeito inibitório sobre cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *L. monocytogenes*.

Em relação aos óleos de *R. officinalis*, *O. basilicum* e *Z. officinalis*, esses apresentaram um baixo espectro de ação sendo apenas efetivo contra uma ou duas bactérias. O óleo de *P. nigrum*, por sua vez, não apresentou nenhuma ação bacteriostática sobre as cepas em ensaio.

Santoyo et al. (2005) pesquisaram a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *R. officinalis* obtido por extração com fluidos supercríticos e em seus estudos relataram um grande potencial sobre bactérias Gram positivas (*S. aureus* e *B. subtilis*) e bactérias Gram negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*). Porém, o óleo de alecrim ensaiado no presente estudo, só foi ativo contra as cepas de *B. subtilis*. A atividade antimicrobiana do óleo essencial de *O. basilicum* foi relatada por Baratta et al. (1998) em estudo com foco nas propriedades antimicrobianas e antioxidantes de vários óleos essenciais.

Stoyanova et al. (2006) demonstraram uma atividade antimicrobiana significativa dos óleos essenciais de *P. nigrum* e *Z. officinalis* contra as bactérias Gram positivas. Além disso, também observaram um efeito do óleo de *Z. officinalis* contra *K. pneumoniae*. Entretanto, no nosso trabalho, o óleo de *P. nigrum* só não foi ativo contra bactérias Gram positivas, enquanto o óleo de *Z. officinalis* foi ativo apenas contra *S. aureus*.

4 Conclusões

Analisando os resultados obtidos, observa-se que a utilização de óleos essenciais como inibidores de crescimento bacteriano é uma boa opção para a substituição de aditivos químicos em alimentos, pois tais produtos possuem um potente e amplo espectro de ação antibacteriana. Porém, sugerem-se mais estudos a respeito da análise sensorial e aceitação do produto no qual será acrescentado o óleo essencial, pois não é válido eliminar os agentes contaminantes de um alimento obtendo-se um produto com sabor, aroma e cor desagradável, bem como apresentando mudanças nas suas propriedades nutritivas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) o apoio financeiro.

Referências bibliográficas

- BARATTA, T. M. et al. Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 12, n. 4, p. 235-244, 1998.
- BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, n. 4, p. 493-496, 1966.
- BEDIN, C.; GUTKOSKI, S. B.; WIEST, J. M. Atividade antimicrobiana das especiarias. **Higiene Alimentar**, v. 13, n. 65, p. 26-29, 1999.
- DEANS, S. G.; SVOBODA, K. P. The antimicrobial properties of marjoram (*Origanum majorana* L.) Volatile Oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 5, n. 3, p. 187-190, 2006.
- DELAQUIS, P. J. et al. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. **International Journal of Food Microbiology**, v. 74, n. 1, p. 101-109, 2002.
- FIORENTINI, A. M. et al. Influence of bacteriocins produced by *Lactococcus plantarum* BN in the shelf-life of refrigerated bovine meat. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 42-46, 2001.
- GERHARDT, U. **Gewürze in der Lebensmittelindustrie: eigenschaftentechnologienverwendung**. Hamburg: Beh's, 1990.
- GREGER, H.; HADACEK, F. Testing of antifungal natural products: Methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analysis**, v. 11, n. 3, p. 137-147, 2000.
- ISMAIEL, A.; PIERSON, M. D. Inhibition of Growth and Germination of *C. botulinum* 33A, 40B, and 1623E by Essential Oil of Spices. **Journal of Food Science**, v. 55, n. 6, p. 1676-1678, 1990.
- LIMA, E. O. Plantas e suas propriedades antimicrobianas: uma breve análise histórica. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Agros, 2002. p. 482-501.
- LÓPEZ, P. et al. Solid- and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n.17, p. 6939-6946, 2005.
- KIM, J. M. et al. Antibacterial activity of carvacrol, citral, and geraniol against salmonella typhimurium in culture medium and on fish cubes. **Journal of Food Science**, v. 60, n. 6, p. 1364-1368, 1995.
- KRAMER, J. **Lebensmittel-mikrobiologie**. Stuttgart: Umer, 1997.
- MIMICA-DUKIĆ, N. et al. Antimicrobial and antioxidant activities of three mentha species essential oils. **Planta Medica**, v. 69, n. 5, p. 413-419, 2003.
- OATTARA, B. et al. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. **International Journal of Food Microbiology**, v. 37, n. 2-3, p. 155-162, 1997.
- RISTORI, C. A.; PEREIRA, M. A. dos S.; GELLI, D. S. The effect in vitro of ground black pepper on contamination with salmonella rubislaw. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n.2, p. 131-133, 2002.
- SANTOYO, S. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of rosmarinus officinalis l. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. **Journal of Food Protection**, v. 68, n. 4, p. 790-795, 2005.
- SAGDIC, O. Sensitivity of four pathogens pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrossols. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 36, n. 5, p. 467-473, 2003.
- SMITH-PALMER, A.; STEWART, J.; FYFE, L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important foodborne pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, v. 26, n. 2, p. 118, 1998.
- STOYANOVA, A. et al. Oleoresins of black pepper (*Piper nigrum* L.) And ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) From vietnam: antimicrobial testings, gas chromatographic analysis and olfatoric evaluation. **Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry**, v. 5, n. 6, 2006.
- UTAMA, J. M. S. et al. *In vitro* efficacy of plant volatiles for inhibiting the growth of fruit and vegetal decay microorganisms. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, n. 22, p. 6371-6377, 2002.
- WONG-LEUNG, Y. L. Antibacterial activities of some Hong Kong plants used in Chinese medicine. **Fitoterapia**, v. 69, n. 1, p. 11-16, 1988.