

## COMPOSIÇÃO QUÍMICA E PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*), CANELA (*Cinnamomum cassia*), CRAVO (*Eugenia caryophyllus*) e MANJERICÃO (*Ocimum basilicum*).

JANIER TERESINHA SIRENA<sup>1</sup>, SABRINA DUARTE CAMARGO<sup>1\*</sup>, JACIR DAL MAGRO<sup>2</sup>,  
ROGÉRIO LUIS CANSIAN<sup>1</sup>, NATALIA PAROUL<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, URI Erechim

<sup>2</sup> Ciências Ambientais, Universidade Comunitária da Região de Chapecó (Unochapecó)

\*e-mail: [sabrinadcamargo@hotmail.com](mailto:sabrinadcamargo@hotmail.com)

**RESUMO** - A crescente e expressiva procura por alimentos mais nutritivos, naturais, funcionais e saudáveis têm levado a indústria alimentícia a concentrar suas pesquisas na busca de produtos desta natureza. Ao mesmo tempo, aumentaram as preocupações relacionadas ao uso descontrolado de conservantes sintéticos em alimentos industrializados, por causa de efeitos tóxicos cumulativos que os mesmos podem causar ao consumidor ao longo de anos. Entre os compostos naturais, os mono- e sesquiterpenos assim como fenilpropanoides presentes em óleos essenciais (OE) tornam-se uma alternativa promissora. O objetivo do nosso estudo foi avaliar a composição química e propriedades antioxidantes e antimicrobianas de OEs de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), canela (*Cinnamomum cassia*), cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllus*) e manjericão (*Ocimum basilicum*) e as misturas de OEs que apresentaram melhores atividades biológicas. O óleo essencial de cravo apresentou melhor atividade antimicrobiana frente a todas as cepas bacterianas avaliadas (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis*). O OE do cravo-da-índia se destacou como poderoso agente antioxidante (IC<sub>50</sub>: 0,076 mg/mL). A mistura de óleos essenciais 25% (v:v) de canela e de 75% (v:v) de cravo mostrou-se promissora, pela combinação da forte atividade antioxidante e bactericida.

### INTRODUÇÃO

A crescente preocupação com uma melhor qualidade de vida está diretamente ligada à alimentação, e isso tem estimulado a indústria de alimentos na busca por alternativas que, além de cumprirem suas funções nutricionais básicas, ofereçam maiores benefícios à saúde. Esta demanda também levou ao interesse crescente da indústria de alimentos em substituir conservantes sintéticos por naturais, utilizando compostos bioativos (Bazana et al., 2019).

Matérias-primas vegetais que contêm esses compostos foram utilizadas no tratamento de doenças humanas e animais

desde a antiguidade. Atualmente cresce cada vez mais o interesse em extrair, isolar, estabilizar e aplicar compostos bioativos nas indústrias alimentícia, química e farmacêutica. Entre estes podem-se destacar óleos essenciais, vitaminas, minerais, polifenóis e carotenoides entre outros.

As plantas aromáticas têm demonstrado potencial biológico, sendo que muitas de suas propriedades estão associadas aos óleos essenciais. Estudos tem demonstrado que os óleos essenciais são potenciais substitutos antimicrobianos e antioxidantes sintéticos para alimentos (Teixeira et al., 2013)

Os óleos essenciais (OEs) são misturas complexas de substâncias odoríferas,

geralmente líquidas e voláteis, formados principalmente por monoterpenos, sesquiterpenos ou fenilpropanoides. São produtos do metabolismo especializado, provenientes de folhas, flores, caule, casca ou raízes (Bhavaniramy et al. 2019). A família Lamiaceae consiste em aproximadamente 3.500 espécies que são nativas principalmente de Mediterrâneo, embora algumas tenham origem na Austrália, no Sudoeste da Ásia e na América do Sul. As espécies de alecrim (*Rosmarinus* sp.), sálvia (*Salvia* sp.), orégano (*Origanum* sp.), tomilho (*Thymus* sp.), manjeriço (*Ocimum* sp.), manjerona (*Marjorana* sp.), menta (*Mentha* sp.), dentre outras, são muito estudadas devido às suas propriedades antioxidantes, antimicrobianas e medicinais (Mariutti e Bragagnolo, 2007).

A vida de prateleira dos produtos depende dos seus parâmetros intrínsecos e extrínsecos. A presença de patógenos evidencia a necessidade de se investir em técnicas de descontaminação para garantir a segurança do alimento. Também há o interesse em reduzir ou eliminar os micro-organismos deteriorantes para aumentar a durabilidade do produto.

A oxidação lipídica e as alterações da cor são atributos importantes que podem estar relacionados à degradação e deterioração de produtos cárneos e que influenciam diretamente os aspectos sensoriais, a qualidade nutricional e a aceitação pelo consumidor. O rompimento da integridade das membranas musculares pela desossa mecânica, moagem, reestruturação ou cozimento alteram os compartimentos celulares com a liberação de ferro da mioglobina e de outras proteínas. A interação deste e de outros agentes pró-oxidantes com os ácidos graxos poliinsaturados resulta na geração de radicais livres e na propagação de reações oxidativas (Olivo, 2006).

Os óleos essenciais de condimentos podem ter muitos componentes, sendo fenilpropanoides os principais responsáveis pelas propriedades antimicrobianas. Os compostos fenólicos são hidrofóbicos e o seu sítio de ação é a membrana celular da célula microbiana. Esses compostos se acumulam na bicamada lipídica causando desarranjo na função e na estrutura da membrana e penetram

a célula bacteriana, exercendo atividade inibitória no citoplasma celular, provocando lise e liberação do ATP intracelular (Walsh et al., 2003)

Em virtude da importância da busca de antimicrobianos e antioxidantes naturais com aplicação na indústria de alimentos, o presente trabalho objetivou determinar a composição química, atividades antibacteriana e antioxidante *in vitro* dos OEs de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), canela (*Cinnamomum cassia*), cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllus*) e manjeriço (*Ocimum basilicum*), com o intuito de identificar os que possuem maior potencial para aplicação com conservantes naturais.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Caracterização química dos óleos essenciais

A composição química dos óleos essenciais livres, misturas relativas e encapsulados foi determinada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas em equipamento GC (7890B) (Agilent Technologies, Santa Clara, Califórnia, EUA) acoplado a um espectrômetro de massas quadripolar (5977A) (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, EUA) com injetor automático AOC20i (Shimadzu <sup>TM</sup>, Kyoto, Japão) e um coluna capilar Agilent19091S (30 m × 250 µm × 0,25 µm), tendo como gás carreador o hélio (1,0 mL/min). A programação de temperatura da coluna foi de 70 °C (Temperatura inicial) com taxa de aquecimento de 10 °C/min até 260 °C, e aquecimento de 40 °C/min até 300 °C, totalizando uma corrida de 20 min. Para detecção, a energia de ionização da fonte foi de 70 eV, com faixa de monitoramento de massas m/z 40-300. Os componentes químicos presentes nos óleos foram detectados e identificados por comparação dos espectros de massa da biblioteca do equipamento (NIST 5.01 Mass Spectral Library - Agilent P/N G1033A). As quantidades relativas de cada componente individual foram calculadas a partir da área de seus respectivos picos no cromatograma.

### Atividade antioxidante

A atividade antioxidante foi determinada pela medida da extinção da absorção do radical DPPH• em 515 nm (Brand-Williams et al., 1995). 500µL das soluções etanoicas de diferentes concentrações (0,0025 a 5 mg/mL) de OEs livres foram incubados por 30 min com de 500 µL de uma solução etanoica de DPPH• 0,1 mM com 500µL de soluções contendo concentrações crescentes dos OEs em álcool etílico (0,0025 a 5 mg/mL). A solução controle foi preparada substituindo-se 500 µL da amostra por 500 µL de álcool etílico. Para a solução denominada “branco” foi utilizada uma mistura OE – álcool etílico sem DPPH•. Os ensaios foram realizados em triplicata, em espectrofotômetro UV-Visível (Pró-análise®, UV-1600).

O percentual de inibição das amostras sobre os radicais DPPH foi calculado pela Equação 1:

$$AA (\%) = 100 - \frac{(Abs amostra - Abs do branco)}{Abs controle} \times 100 \quad (1)$$

O valor do IC<sub>50</sub>, definido como a quantidade de antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical livre DPPH, num determinado intervalo de tempo, foi determinado por meio da curva da concentração versus atividade antioxidante por análise de regressão não linear.

### Análises microbiológicas

Para determinar a atividade antimicrobiana três espécies de bactérias de cepas padrão Gram-negativas: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis, e três Gram-positivas: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis* foram utilizadas. As cepas foram previamente crescidas em meio Luria Bertani (LB) (10 g/L de triptona, 5 g/L de extrato de levedura e 5 g/L de NaCl) durante 24 h a 36 ± 1°C em estufa bacteriológica (J.PROLAB JP 101). Após esse período a suspensão bacteriana correspondia a aproximadamente 10<sup>8</sup> células/mL.

A análise de difusão em disco foi realizada conforme protocolo do Manual Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI (CLSI, 2015) e aplicado aos óleos essenciais e misturas relativas de óleos essenciais. Para tal, utilizou-se 15 e 10 µL dos óleos essenciais sob discos de papel (10 mm de diâmetro) esterilizados em placas de Petri contendo ágar LBA (15 g de agar/L de LB). As placas foram então incubadas a 37 °C por 24 h, após os halos formados foram medidos com um paquímetro e o resultado foi expresso em milímetros.

### Concentração inibitória mínima (CIM)

Foram preparadas soluções dos óleos essenciais livres e encapsulados de 50; 25; 12,50; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78; 0,39 e 0,20 mg/mL usando caldo LB com 1% de DMSO (dimetilsulfóxido) como solvente. Em seguida 10 µL de bactérias foram inoculadas e medida a absorbância (0 h) foi realizada em leitor de microplaca ELISA (Bio Tek Instruments EL 800) no comprimento de onda de 490 nm. As placas foram incubadas por 24 h a 36 ± 1 °C em estufa bacteriológica. Após desse período realizou-se a segunda leitura (24 h) das microplacas (Gaio et al., 2015). A CIM foi definida como a menor concentração da amostra, capaz de inibir o crescimento microbiano.

### Concentração bactericida mínima (CBM)

10 µL das soluções das amostras que apresentaram melhor efeito inibitório, foram transferidas para microplacas contendo 150 µL caldo LB com 1% de DMSO. A concentração bactericida mínima foi considerada os locais onde não houve crescimento bacteriano após 24 h de incubação a 36 ± 1 °C em estufa bacteriológica.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Caracterização química dos óleos essenciais

Os compostos presentes nos óleos essenciais de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), canela (*Cinnamomum cassia*), cravo (*Eugenia caryophyllus*) e manjerição (*Ocimum basilicum*) são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Compostos presentes nos óleos essenciais de Alecrim (*Rosmarinus officinalis*), Canela (*Cinnamomum cassia*), Cravo (*Eugenia caryophyllus*) e Manjeriço (*Ocimum basilicum*) (TR - Tempo de retenção (min.); OE: Óleo essencial

Nome químico	TR	OE	OE	OE	OE	OE Canela e	OE Canela	OE Canela
		Alecrim	Canela	Cravo	Manjeriço	Cravo 25:75 (v:v)	e Cravo 50:50 (v:v)	e Cravo 75:25 (v:v)
Área (%)								
1	$\alpha$ -Pineno	3,4	19,93	-	-	-	-	0,49
2	Canfeno	4,0	10,71	-	-	-	-	-
3	$\beta$ -Pineno	4,2	6,62	-	-	-	-	-
4	o-Cimene	4,9	2,8	3,31	-	0,87	1,46	2,26
5	D-Limoneno	5,0	3,72	1,03	-	-	-	-
6	Acetato de Terpinil	5,0	-	-	-	-	0,45	0,65
7	Eucaliptol	5,1	20,62	-	-	-	-	-
8	Álcool benzílico	5,1	-	1,62	-	-	-	-
9	Linalol	5,9	1,06	6,93	22,16	1,79	3,13	4,54
10	(+)-Cânfora	6,7	22,05	-	-	-	-	-
11	Borneol	6,9	4,68	-	-	-	-	-
12	$\alpha$ -Terpineol	7,3	3,16	-	-	-	-	-
13	Estragol	7,4	-	-	73,0	-	-	-
14	$\alpha$ -Citral	8,3	-	-	0,83	-	-	-
15	Cinamaldeído	8,5	-	66,86	-	20,35	34,16	48,16
16	L-bornil acetato	8,6	1,89	-	-	-	-	-
17	$\beta$ -Metilcinamaldeído	9,2	-	-	-	-	1,45	-
18	Eugenol	9,6	-	4,69	76,1	55,8	40,92	26,44
19	Cariofileno	10,4	2,76	7,43	14,69, 0	12,27	9,94	8,53
20	$\alpha$ -Bergamoteno	10,6	-	-	1,11	-	-	-
21	Acetato de Cinnamila	10,7	-	4,22	-	0,89	1,83	3,65
22	Humuleno	10,9	-	-	1,84	1,43	1,0	0,7
23	Acetato de eugenol	11,7	-	-	6,49	4,83	3,29	1,86
24	Cicoundecatrieno- tetrametil	11,9	-	-	-	2,9	-	-
25	Óxido de cariofileno	12,5	-	-	0,8	0,65	0,52	-
26	Benzoato de Benzila	14,1	-	3,91	-	1,12	1,85	2,72

No óleo essencial de alecrim dentre os constituintes identificados, os compostos encontrados em maior quantidade foram: (+)-cânfora (22,05%), eucaliptol (20,62%) alfa-pineno (19,43%), canfeno (10,71%), o que está coerente com o que traz a literatura (Hernández et al., 2016).

No óleo essencial de canela os compostos majoritários foram: cinamaldeído (66,86%), cariofileno (7,43%), eugenol (4,69%), linalol (6,43%), resultado este que também condiz com outros estudos sobre este óleo essencial (Bhavaniramy et al., 2019). Quanto ao composto cinamaldeído, este é um agente antibacteriano de amplo espectro (Minozzo et al., 2021) com um bom efeito inibitório contra *Escherichia coli*, *Salmonella*

*choleraesuis* e *Staphylococcus aureus*, seu mecanismo bacteriostático se manifesta principalmente pela destruição da integridade da estrutura celular e interferindo na biossíntese de DNA e metabolismo de proteínas (Yin et al., 2020).

Para o óleo essencial de cravo os compostos encontrados em maior quantidade foram: eugenol (76,18%), cariofileno (14,69%), acetato de eugenol (6,49%), que também está em conformidade com o que outros autores também trazem (Hadidi et al., 2020). Enquanto que para o óleo essencial de manjeriço os compostos majoritários foram: estragol (73%) e linalol (22,16%), também coerente com a literatura (Dris et al., 2017).

Dentre os compostos majoritários identificados pode-se destacar o eugenol que além da propriedade antibacteriana (Chiaradia et al., 2012), apresenta uma pronunciada atividade antioxidante. Neste sentido, destaca-se também o cariofileno que apresenta uma forte atividade antirradical (Hadidi et al, 2020).

Com estes e os ensaios de atividades biológicas, apresentados na sequência, percebeu-se um potencial positivo no estudo dos dados da caracterização das misturas relativas de óleos essenciais de canela e cravo. Os compostos presentes nas misturas de óleos essenciais de canela e cravo nas proporções de 25:75, 50:50, 75:25 (v:v), também são apresentados na Tabela 1.

### Análises de atividade antioxidante

Os resultados da análise da atividade antioxidante estão descritos na Tabela 2. Com base nestes resultados, misturas relativas (v:v) de óleo essencial de canela e cravo foram avaliadas e seus resultados também são apresentados na Tabela 2, juntamente com o índice de combinação determinados para estas misturas.

Tabela 2: Atividade antioxidante dos óleos essenciais de Alecrim, Canela, Cravo, Manjeriçã e das misturas relativas v:v de óleos essenciais de Canela:Cravo

Óleo Essencial	DPPH	
	IC <sub>50</sub> médio (mg/mL)	Índice Combinação
Alecrim	ND	
Canela	0,87 <sup>b</sup> ±0,03	
Cravo	0,076 <sup>a</sup> ± 0,005	
Manjeriçã	ND	
Canela:Cravo (75:25, v:v)	0,068 <sup>a</sup> ±0,002	8,13
Canela:Cravo (50:50, v:v)	0,059 <sup>a</sup> ±0,003	8,07
Canela:Cravo (25:75, v:v)	0,0496 <sup>a</sup> ±0,0001	8,02

Analisando-se os OE puros, o cravo apresentou os melhores resultados (IC<sub>50</sub> 0,076 mg/mL). As análises de modelos lineares

generalizados e contraste mostraram uma atividade antioxidante mais baixa para o óleo essencial de canela em comparação com o óleo essencial de cravo e as misturas relativas de óleos essenciais de canela e cravo, sendo que não houve diferença significativa entre os resultados do cravo puro e das misturas relativas canela:cravo (75:25 - IC<sub>50</sub> de 0,068 mg/mL, 50:50 - IC<sub>50</sub> de 0,059 mg/mL, 25:75 - IC<sub>50</sub> de 0,0496 mg/mL) estando coerente ao que já foi relatado na literatura. Valores de IC<sub>50</sub> de 0,08 e 0,37 mg/mL para óleo essencial de cravo puro foram descrito por Hadidi et al. (2020) e Vanin et al. (2014).

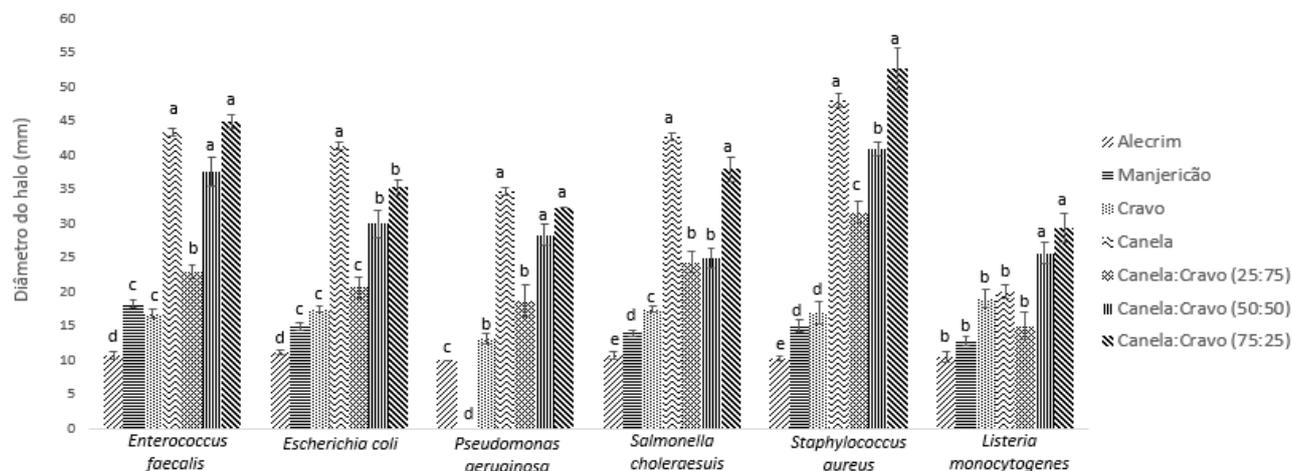
Com relação aos óleos essenciais de alecrim e manjeriçã, não foi detectado atividade antioxidante para as concentrações avaliadas.

A atividade antioxidante dos óleos essenciais de cravo e de canela é atribuída principalmente à presença de compostos fenólicos como eugenol e acetato de eugenol (Chen et al., 2017), possivelmente a atividade antioxidante mais elevada da mistura de canela e cravo em comparação com os respectivos óleos essenciais puros deve-se aos efeitos sinérgicos desta mistura. Conforme Tabela 2, observou-se efeito sinérgico entre os óleos essenciais de cravo e canela em todas as misturas, com valores de índice de combinação superiores a 1 para todos os resultados.

### Análises microbiológicas

Nos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos por meio de disco – difusão, a presença e o tamanho dos halos indicam a suscetibilidade da bactéria ao óleo essencial, quando os halos são menores que 7 mm são considerados inativos contra as bactérias, entre 7 e 12 mm o composto tem baixa atividade inibitória, entre 12 e 20 mm indicam atividade moderada e halos com diâmetro maior que 20 mm indicam forte atividade (Lages et al., 2021). Os resultados encontrados para os óleos essenciais de alecrim, manjeriçã, cravo, canela e as misturas relativas de canela e cravo são apresentados na Figura 1.

Figura 1 - Halo de inibição (mm) dos óleos essenciais de Alecrim, Manjerição, Cravo, Canela e misturas relativas de Canela e Cravo nas proporções de 25:75, 50:50 e 75:25 (v:v). Volume de 10 µL dos óleos essenciais sob discos. Para cada microrganismo, barra de médias seguidas de letras minúsculas iguais (a, b, c, d) não diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).



Observa-se que o óleo essencial de canela, bem como suas misturas relativas apresentaram um efeito inibitório promissor, com diâmetros de halos que indicam forte atividade inibitória, onde halos formados para os discos embebidos em 10 µL do óleo essencial de canela puro foram de 43 mm para a *Salmonella choleraesuis*, 41 mm para *Escherichia coli*, 35 mm para *Pseudomonas aeruginosa*, 43 mm para *Enterococcus faecalis*, 48 mm para *Staphylococcus aureus* e 20 mm para *Listeria monocytogenes*.

Também observa-se que há uma mesma tendência entre todas as misturas relativas (v:v) de óleo essencial de canela e cravo, observando-se formação de halos em todos os casos avaliados. Para os discos embebidos em 10 µL da mistura canela:cravo (25:75) constou-se halos de 24 mm para a *Salmonella choleraesuis*, 21 mm para *Escherichia coli*, 19 mm para *Pseudomonas aeruginosa*, 23 mm para *Enterococcus faecalis*, 32 mm para *Staphylococcus aureus* e 15 mm para *Listeria monocytogenes*. Destaca-se os resultados obtidos para a *Pseudomonas aeruginosa*, onde os óleos essenciais de canela, cravo, alecrim, e todas as misturas de canela:cravo: 25:75, 50:50 e 75:25 apresentaram efeito inibitórios, com formação de halo de 35mm, 13mm, 10mm, 19mm, 28 mm e 32 mm respectivamente, para os discos embebidos em 10 µL. Considera-se este um resultado promissor principalmente devido a *Pseudomonas aeruginosa*, ser uma bactéria

patogênica, formadora de biofilmes resistentes aos antibióticos e causadora de graves contaminações microbianas em ambientes industriais (Ghaderi et al., 2021).

Muitos estudos mostraram que esta atividade do óleo essencial de canela pode ser atribuída a presença de cinamaldeído, bem como características hidrofóbicas dos componentes dos óleos essenciais, que os permite particionar os lipídios da membrana celular bacteriana, perturbando as estruturas celulares e tornando-as mais permeáveis. O vazamento extenso de células bacterianas ou a saída de moléculas e íons críticos pode levar à morte (Oulkheir et al., 2017).

### Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM)

Todos os óleos essenciais avaliados apresentaram atividade bactericida frente as bactérias *Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*. Sendo que o óleo essencial de canela apresentou atividade bactericida também para *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*. Conforme pode-se observar Tabela 3, a atividade CIM e CBM apresentaram uma maior efetividade bactericida em todas as misturas de óleo essencial de canela e cravo em comparação aos óleos essenciais puros.

Tabela 3: Concentração inibitória mínima (CIM) apresentada em mg/mL e concentração bactericida mínima (CBM) apresentada em mg/mL, para os óleos essenciais de alecrim, canela, cravo e manjeriço, bem como das misturas relativas (v:v) de óleos essenciais de canela e cravo

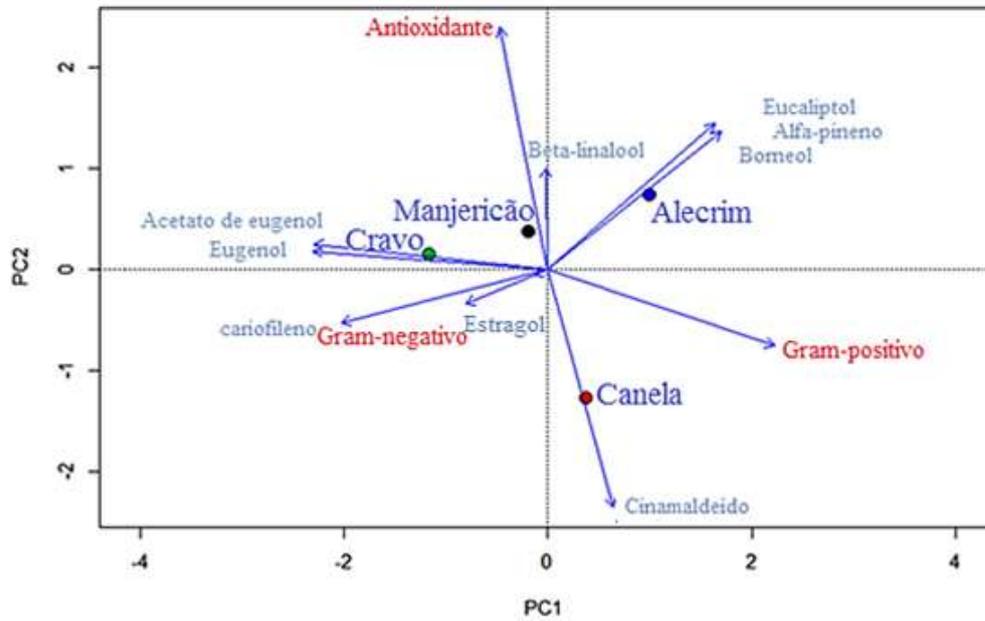
Óleo essencial	<i>Salmonella choleraesuis</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Enterococcus faecalis</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Listeria monocytogenes</i>	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
<b>Alecrim</b>	25,00	25,00	50,00	50,00	ND	ND	ND	ND	25,00	50,00	12,50	25,00
<b>Canela</b>	3,13	3,13	3,13	6,25	6,25	12,50	6,25	25,00	1,56	6,25	3,13	6,25
<b>Cravo</b>	6,25	12,50	50,00	50,00	ND	ND	ND	ND	50,00	50,00	6,25	12,50
<b>Manjeriço</b>	50,00	50,00	50,00	50,00	ND	ND	25,00	50,00	50,00	50,00	25,00	50,00
<b>Canela:Cravo (25:75)</b>	1,56	6,25	3,13	3,13	6,25	12,50	3,13	6,25	1,56	6,25	3,13	6,25
<b>Canela:Cravo (50:50)</b>	3,13	12,50	3,13	3,13	3,13	3,13	3,13	6,25	1,56	6,25	3,13	12,50
<b>Canela:Cravo (75:25)</b>	1,56	3,13	0,78	1,56	1,56	3,13	3,13	3,13	0,78	3,13	0,78	3,13

O óleo essencial de canela, bem como suas misturas relativas com óleo essencial de cravo apresentarem efeito inibitório e bactericida contra todas as bactérias avaliadas. Conforme a classificação para atividade antimicrobiana de materiais vegetais, de acordo com os resultados de CIM estabelecida por Duarte et al. (2005), com base no trabalho de Aligiannis et al. (2001), são consideradas como forte, moderada e fraca atividade antimicrobiana, óleos ou extratos que apresentem CIM até 0,5 mg/mL, entre 0,6 e 1,5 mg /mL, e acima de 1,6 mg/mL, respectivamente. Desta forma, percebe-se que os resultados para a mistura de óleos essenciais de canela e cravo na proporção 75:25 apresentaram atividade antimicrobiana considerada moderada frente todas as bactérias Gram-negativas testadas (*Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*

*aeruginosa*) e também perante as Gram-positivas *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*.

O composto cariofileno nos óleos essenciais mostrou forte associação com a atividade bactericida em Gram-negativa e a alta atividade bactericida para as Gram-positivas foi associada ao cinamaldeído presentes no óleo essencial de canela (Figura 2). A ação antimicrobiana dos óleos essenciais pode ser atribuída à sua capacidade de penetrar nas membranas celulares bacterianas e inibir as propriedades funcionais das células e assim, a hidrofobicidade do óleo essencial permite a separação de lipídios da membrana celular bacteriana, tornando a parede celular bacteriana mais permeável e vulnerável à ação de compostos (Reis et al., 2022).

Figura 1 Análise de componentes principais (PCA) por correlação dos compostos do óleo essencial com a atividade antioxidante e bactericida do óleo essencial de canela, manjeriçã, cravo e alecrim.



De acordo com Figura 2, a mistura de óleos essenciais de 75% de cravo e 25% de canela apresentam-se promissoras. Este resultado, pode ser corroborado pela combinação de dois resultados, que são a forte atividade antioxidante do óleo essencial de cravo puro e forte atividade bactericida de todas as misturas de canela e cravo, independente das concentrações testadas pelo GLM. Outro fator importante é a associação do óleo essencial de cravo com a atividade bactericida Gram-negativa no PCA (Figura 2), em especial devido a concentração de cariofileno. Diversas atividades biológicas são atribuídas a este sesquiterpeno, entre elas destaca-se a atividade antibacteriana (Oliveira-Tintino et al., 2018).

Agrega-se a isto o fato de o cinamaldeído (composto majoritário no óleo essencial de canela), devido ao seu sabor e aroma particular e pronunciado, volatilidade e natureza lipofílica, ter seu uso na conservação de alimentos limitado, principalmente em aspectos sensoriais (Minozzo et al, 2021). E, o eugenol (composto majoritário no óleo essencial de cravo), ser utilizado principalmente como aromatizante em alimentos, tornam a mistura relativa de óleo essencial de canela e cravo, na proporção de 25:75 (v:v) respectivamente promissora no que tange a aceitação de um produto pelo público e selecionada para ser encapsulada.

## CONCLUSÃO

Dentre os óleos essenciais avaliados os que apresentaram melhor potencial, por meio da atividade antioxidante e antimicrobiana foram os óleos essenciais de canela cássia (*Cinnamomum cassia*) e cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata*). As misturas relativas de óleo essencial de canela e cravo apresentaram efeito sinérgico e resultados promissores para atividade antioxidante e antimicrobiana. Sendo que a mistura relativa dos óleos essenciais de canela e cravo na proporção 25:75 (v:v) apresentou melhor atividade.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a URI pela estrutura e apoio fornecidos, e também agradecem ao CNPq, FAPERGS, CAPES pela concessão da bolsa de iniciação científica.

## REFERÊNCIAS

- ALIGIANNIS, N., KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINOU, I. B (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.40, p.4168-4170
- BAZANA, M. T.; CODEVILLA, C. F.; MENEZES, C. R. (2019), Nanoencapsulation of bioactive compounds: challenges and perspectives. *Current Opinion in Food Science*, v. 26, p. 47 – 56
- BHAVANIRAMYA, S.; VISHNUPRIYA, S.; AL-ABOODY, M. S.; VIJAYAKUMAR, R.; BASKARAN D. (2019). Role of essential oils in food safety: Antimicrobial and antioxidant applications. *Grain & Oil Science and Technology*.
- CHEN, X.; REN, L.; LI, M.; QIAN, J.; FAN, J.; DU, B (2017). Effects of clove essential oil and eugenol on quality and browning control of fresh-cut lettuce. *Food Chemistry*. v.214 p:432–439.
- CHIARADIA, V.; PAROUL, N.; CANSIAN, R. L.; JÚNIOR, C. V.; DETOFOL, M. R.; LERIN, L. A.; OLIVEIRA, J. V.; OLIVEIRA, D. (2012). Synthesis of Eugenol Esters by Lipase-Catalyzed Reaction in Solvent-Free System. *Applied Biochemistry and Biotechnology* v. 168, no 4, p: 742–751.
- DRIS, D.; TINE-DJEBBAR, F.; BOUABIDA, H.; SOLTANI, N. (2017). Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical aspects. *South African Journal of Botany*. v.113, p.362–69.

- DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G.; DELARMELINA, C. (2005). Anti-Candida Activity of Brazilian Medicinal Plants. *Journal of Ethnopharmacology*, v.97, p.305-11,
- GAIO, I.; SAGGIORATO, A.; TREICHEL, H.; CICHOSKI, A.; ASTOLFI, V.; CARDOSO, R.; TONIAZZO, G.; VALDUGA, E.; PAROUL, N.; CANSIAN, R. (2015). Antibacterial activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Italian-type sausage. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, v. 10, p. 323– 329.
- GHADERI, L.; ALIAHMADI, A.; EBRAHIMI, S. N.; RAFATI, H. (2021). Effective Inhibition and eradication of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by *Satureja khuzistanica* essential oil nanoemulsion. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. v.61.
- HADIDI, M.; POURAMIN, S.; ADINEPOUR, F.; HAGHANI, S.; JAFARI, S. M. (2020). Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities. *Carbohydrate Polymers*. v. 236
- HERNÁNDEZ, M. D.; SOTOMAYOR, J. A.; HERNÁNDEZ, A.; JORDÁN, M. J. (2016) Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Oils. In: PREEDY, V. R. (org.) *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. San Diego: Academic Press, Cap. 77, p. 677 – 688.
- LAGES, L. Z.; RADÜNZ, M.; GONÇALVES, B. T.; ROSA, R. S.; FOUCHY, M. V.; CONCEIÇÃO, R. C. S.; GULARTE, M. A.; MENDONÇA, C. R. B.; GANDRA, E. A. (2021) Microbiological and sensory evaluation of meat sausage using thyme (*Thymus vulgaris*, L.) essential oil and powdered beet juice (*Beta vulgaris* L., Early Wonder cultivar). *LWT*. v. 148 p: 111794.
- MARIUTTI, L.R.B.; BRAGAGNOLO, N. (2007). Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae. *Aplicação em Produtos Alimentícios*. *Brazilian Journal of Food Technology*, vol. 10, n. 2, p. 96-103.
- MINOZZO, M.; STEFFENS, J.; BACKES, G. T.; PAROUL, N.; CANSIAN, R. L. (2021) Biological potential and microencapsulation of *Cinnamomum cassia* essential oil as an alternative for pest control in stored maize. *Research, Society and Development* v. 10, e530101422334.
- OLIVEIRA-TINTINO, C. D. M.; PESSOA, R.; T; FERNANDES, M. N. M.; ALCÂNTARA, I. S.; SILVA, B. A. F.; OLIVEIRA, M. R. C., MARTINS, A. O. B. P. B. (2018). Anti-inflammatory and anti-edematogenic action of the *Croton campestris* A. St.-Hil (Euphorbiaceae) essential oil and the compound  $\beta$ -caryophyllene in in vivo models. *Phytomedicine*, v.41, p.82–95
- OLIVO, R. (2006). Alterações oxidativas em produtos cárneos. In OLIVO, R. *O mundo do frango: cadeia produtiva da carne de frango*. Criciúma, SC: Ed. Do Autor. Cap. 44, p. 533-542.
- OULKHEIR, S. M.; AGHROUCH, M.; AMOUCH, F.; OUZAID, K.; MOUKALE, A.; CHADII, S. (2017) Antibacterial Activity of Essential Oils Extracts from Cinnamon, Thyme, Clove and Geranium Against a Gram Negative and Gram Positive Pathogenic Bacteria. *Journal of Diseases and Medicinal Plants*. v. 3, p. 1 – 5.
- REIS, D. R.; AMBROSI, A.; DI LUCCIO, M. (2022). Encapsulated essential oils: A perspective in food preservation. *Future Foods*. v. 5, p: 100126.
- TEIXEIRA, B.; MARQUES, A.; RAMOS, C.; NENG, N. R.; NOGUEIRA, J. M. F.; SARAIVA, J. A.; NUNES, M. L. (2013) Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, v. 43, p. 587 – 595
- VANIN, A. B.; ORLANDO, T.; PIAZZA, S. P.; PUTON, B. M. S.; CANSIAN, R. L.; OLIVEIRA, D.; PAROUL, N. (2014). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Clove Essential Oil and Eugenyl Acetate Produced by Enzymatic Esterification. *Applied Biochemistry*

and Biotechnology v. 174, no 4, p: 1286–1298

WALSH, S.E.; MAILLARD J.-Y.; RUSSELL, A.D.; CATRENICH, C.E.; CHARBONNEAU, D.L., BARTOLO, R.G. (2003). Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive and -negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 94, p. 240-247

YIN, L.; CHEN, J.; WANG, K.; GENG Y.; LAI, W.; HUANG, X.; CHEN, D.; GUO, H. O.; FANG, J.; CHEN, Z.; TANG, L.; HUANG, C.; LI, N.; OUYANG, P. (2020). Study the antibacterial mechanism of cinnamaldehyde against drug-resistant *Aeromonas hydrophila* in vitro. *Microbial Pathogenesis*, v. 145, p. 104208.