



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL
CATARINENSE



Curso de Tecnologia em Alimentos

Trabalho de Conclusão de Curso

ESTUDO DA PROPRIEDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE ALHO (*Allium Sativum*), PIMENTA DO REINO (*Piper Nigrum*) E PIMENTA ROSA (*Schinus Molle*) PARA APLICAÇÃO EM CORTES DE FRANGO TEMPERADOS

Paula Choseck Zacarão

Raquel Piletti¹

Resumo: Devido a busca por uma alimentação mais saudável, embora ainda pouco estudada, a utilização de extratos naturais atuando como antimicrobianos tem sido uma boa alternativa na substituição de conservantes sintéticos. Neste trabalho, os óleos essenciais de alho, pimenta rosa e pimenta do reino foram avaliados a fim de verificar e comprovar sua atividade antimicrobiana frente as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* através do método de Concentração Inibitória Mínima (CIM). Os resultados do teste de concentração inibitória mínima comprovaram eficiência bacteriostática para ambos os óleos testados, porém, os óleos essenciais de pimenta rosa e pimenta preta demonstraram maior efeito para a bactéria *S. aureus* em comparação a *E. coli*. Já óleo essencial de alho apresentou o melhor resultado, sendo o mais indicado para uso em cortes de aves temperados por ter a maior atividade antimicrobiana tanto para *E. coli* quanto para *S. aureus*. Observou-se que a menor concentração testada 0,0002 mL/mL seria a concentração ideal para uso contra bactérias do tipo *S. aureus*, onde observou-se uma redução de quase 100%. Esses resultados potencializam ainda mais a utilização de extratos naturais em alimentos, devido as suas diversas propriedades.

Palavras-chave: óleos essenciais, alho, pimenta rosa, pimenta do reino, frango.

¹ professor orientador

1. Introdução

A busca por produtos mais saudáveis, aliada ao preço mais acessível tem aumentado muito o consumo da carne de aves.

Por conta desse apelo por uma alimentação mais saudável, embora ainda pouco estudada, a utilização de extratos naturais atuando como antimicrobianos tem sido uma boa alternativa na substituição de conservantes sintéticos, em particular os extratos de alho e pimenta, que podem atuar também como condimentos na fabricação de cortes de frango temperados.

Segundo Olivo (2006), a transformação da indústria avícola, a partir da década de 90, foi muito acentuada. Os processos de integração se intensificaram propiciando um aumento da produção e uma maior profissionalização do setor. O uso de aditivos e ingredientes foi fundamental para o desenvolvimento de uma nova geração de produtos, como salsichas de frango, *nuggets*, produtos reestruturados, cortes temperados, presuntos e embutidos em geral.

Muitas plantas aromáticas estão ligadas a indústria de conservas, salsas, condimentos, biscoitos, doces e bebidas, a qual contribuiu nos últimos tempos, ainda com a forte concorrência dos produtos sintéticos, ao aumento do consumo de essências ou óleos essenciais, etéreos ou voláteis, como também são denominadas, ao aumento de sua produção, assim como de seus sucedâneos artificiais. (MARANCA, 1985).

Os aditivos sintéticos utilizados pela indústria de alimentos são considerados seguros, mas sua utilização encontra cada vez mais restrições pela regulamentação internacional. Por essa razão, pesquisas são necessárias para que aditivos naturais e atóxicos possam ser utilizados em substituição aos aditivos sintéticos para prevenir a deterioração dos alimentos.

O presente trabalho tem por objetivo o estudo da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de alho, pimenta do reino e pimenta rosa, para aplicação em cortes de frango temperados.

2. Revisão de Literatura

2.1 Fatores Microbiológicos

A indústria alimentícia tem como propósito a produção de alimentos com uma longa vida útil ligada a uma inocuidade no que diz respeito à presença de microrganismos patogênicos e suas toxinas. Porém, as novas tendências no perfil do consumidor e da legislação de alimentos têm tornado essa busca desafiante. Desta forma, estudam-se novos agentes que para auxiliar na racional substituição dos conservantes constantemente utilizados no controle do crescimento microbiano, e que sejam possíveis de uma inserção em um sistema de conservação de alimentos. Neste propósito, os elementos de natureza vegetal, em especial as especiarias e seus produtos derivados, aparecem com relevante importância no seu possível uso como potenciais agentes inibitórios do crescimento microbiano. Assim, estes elementos que antes se apresentavam, principalmente, como agentes vetores de aromas e gostos característicos aos alimentos, apresentam agora uma nova perspectiva de emprego. (SOUZA et al., 2003).

Segundo Olivo (2006), alguns microrganismos, devido a seus metabólitos, são capazes de induzir alterações de cores em carnes frescas e produtos processados. Bactérias aeróbicas consomem oxigênio, reduzindo a sua concentração, tornando a carne marrom, devido à formação do pigmento metamioglobina (Fe^{3+}).

Óleos essenciais de plantas mostraram ter atividade contra muitas espécies de bactérias, entre elas, gram-positivas, gram-negativas, aeróbias ou não. Além dessas propriedades antimicrobianas possuem também propriedades inseticidas e atuam como um excelente antioxidante natural. Por todas essas características podem ser usados como aditivos em vários segmentos industriais, como por exemplo, indústria de alimentação humana e animal, indústria farmacêutica e de cosméticos, entre outras.

Atualmente as indústrias de nutrição humana e animal estão buscando alternativas para o uso de algumas substâncias e ao mesmo tempo buscando aditivos que possam exercer mais que uma função específica. Uma alternativa é o uso de extratos naturais que podem exercer tanto a função antioxidante como antimicrobiana.

No segmento de alimentos essa opção já vem sendo utilizada a algum tempo pois a maioria desses extratos já fazem parte da composição de especiarias e condimentos, e que além de conferirem sabor tem a função de aumentar a vida de prateleira desses alimentos.

2.3 Óleos Essenciais

Óleos essenciais são produtos voláteis de origem vegetal, obtidos por processo de destilação por arraste com vapor de água, destilação por pressão reduzida ou outro método. Eles podem se apresentar isoladamente ou misturados entre si, retificados, desterpenados ou concentrados. Óleos essenciais retificados são aqueles produtos que tenham sido submetidos ao processo de destilação fracionada para concentrar determinados componentes; já os desterpenados, são aqueles que tenham sido submetidos ao processo que objetiva eliminar os terpenos e sesquiterpenos, com o que se melhoram tanto a solubilidade como a estabilidade do material (desterpenação). Os óleos essenciais concentrados, por sua vez, são os que tenham sido parcialmente desterpenados. (ANVISA, 1999).

De acordo com LANGHOUT (2005), a principal diferença que pode ser estabelecida entre os extratos vegetais e os óleos essenciais é o método de extração utilizado. A parte do vegetal em que o óleo essencial é encontrado depende da espécie e, embora todos os órgãos de uma planta possam acumular óleos essenciais, sua composição pode variar segundo sua localização na estrutura do vegetal. (SIMÕES et al., 1999).

As substâncias ativas provenientes das plantas podem ser classificadas de acordo com suas características físicas, químicas ou atividade biológica. Os principais grupos existentes são: alcalóides (álcoois, aldeídos, cetonas, éters, ésteres, lactonas), glucosídeos, compostos fenólicos, saponinas, mucilagens, flavonóides, terpenóides (mono e sesquiterpênicos e esteróides), taninos e óleos essenciais. Essas substâncias normalmente não se encontram em estado puro, mas sob a forma de complexos, cujos diferentes componentes se completam e reforçam sua ação sob o organismo em questão. Dentre os grupos existentes, os óleos essenciais são os mais estudados como aditivos na alimentação humana e animal. Uma das vantagens da utilização dos óleos essenciais é que grande parte dos compostos ativos da planta estão presentes em maior quantidade no óleo. (OETTING, 2005).

2.4 Condimentação

A carne de frango é considerada de grande versatilidade, tanto no ponto de vista culinário como tecnológico. Apresenta sabor suave, podendo ser condimentada das mais variadas formas. Porém, pelo mesmo motivo, deve-se ser cauteloso ao condimentá-la uma vez que nela os sabores das especiarias ou óleos essenciais apresentam-se mais perceptíveis. (OLIVO, 2006).

Ainda segundo o mesmo autor, todo alimento *in natura* ou processado, tem seu odor e sabor característicos, que podem ser resultado de sua própria natureza ou do processamento ao qual foi submetido. Fazendo o uso de substâncias odoríferas, como os condimentos, especiarias e ervas aromáticas, podemos modificar o aroma e o sabor do alimento, mascarando sabores desagradáveis e desta forma, promovendo sua melhor aceitação.

2.4.1 Alho

O alho pertence a família das “Liláceas”. Possui um bulbo ou cabeça comestível, composto de seis a doze bulbinhos, ou dentes. Por seu gosto característico, é utilizado como condimento de produtos alimentícios, especialmente aqueles elaborados com carne. (BOEING,1995).

Segundo Watanabe (1983), o alho disfarça perfeitamente o cheiro de certas carnes e peixes, além de torná-los mais saborosos. Seus poderes germicidas tornam as carnes menos perigosas e, por sua capacidade de combinar com proteínas, mais fáceis de digerir.

A equivalência aproximada para se obter 1 kg de óleo essencial é a utilização de 1.000 kg de alho *in natura*. Muito utilizado na culinária mundial, é essencial na carne de frango e confere sabor muito apreciado pelos brasileiros. (OLIVO, 2006).

2.4.2 Pimenta

Trata-se de plantas do gênero *Capsicum*, família *Solanacea*, a mesma do tomate, berinjela ou da batata, com muitas espécies, variedades e cultivares. Picante ou doce, o sabor de todas essas pimentas, com sua cor e seu aroma, faz delas um

condimento comum dos pratos mais variados, especialmente em países de clima quente, próprio para o seu cultivo. (MARANCA, 1985).

A equivalência aproximada para se obter 1 kg de óleo essencial é a utilização de 25 kg de pimenta *in natura*. É a especiaria mais utilizada mundialmente devido a suas notas perfumadas e secas. (OLIVO, 2006).

3. Materiais e Métodos

3.1 Teste Microbiológico

Existem vários métodos para avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica dos extratos vegetais. Os mais conhecidos incluem método de difusão em ágar, diluição em caldo, método de macro diluição e micro diluição. As variações referentes à determinação da CMI (concentração inibitória mínima) de extratos de plantas podem ser atribuídas a fatores como a técnica aplicada, o microrganismo e a cepa utilizada no teste, à origem da planta, a época da coleta, se os extratos foram preparados a partir de plantas frescas ou secas e a quantidade de extrato testada. (OSTROSKY et al., 2008)

O teste microbiológico foi efetuado no LADEBIMA – Laboratório de Biomateriais e Materiais Antimicrobianos, localizado no Parque Científico Tecnológico – IPARQUE, pertencente à Unesc.

A caracterização microbiológica dos óleos foi realizada em bactérias do grupo gram-positivo (*Staphylococcus aureus*) e gram-negativo (*Escherichia coli*). O teste realizado foi o de concentração inibitória mínima (CIM).

A CIM é determinada com uma sequência decrescente de concentrações do composto em um caldo, que é então inoculado com uma bactéria-teste. (TORTORA et al., 2005). Considera-se a CIM a menor concentração do composto capaz de inibir o crescimento bacteriano, (fenômeno observado pela leitura da absorbância) após incubação a 37°C por tempo determinado. (NCCLS, 2003).

Os testes de CIM foram efetuados em triplicada para uma melhor confiabilidade dos resultados. O teste foi realizado em capela de fluxo laminar Veco, onde utilizou-se tubos de ensaio estéreis contendo 2 mL de meio de cultura LB Broth e suspensão bacteriana e três proporções diferentes de cada extrato, sendo elas: 0,02 mL/mL,

0,002 mL/mL e 0,0002 mL/mL. Os tubos foram mantidos em estufa de incubação Fanen, sob agitação constante, em um agitador Phoenix AP-56, por 24 horas a 37°C. Após o período de incubação, foi efetuada leitura em espectrofômetro Shimadzu UV 1800, a 600 nanômetros (nm).

4. Resultados e Discussões

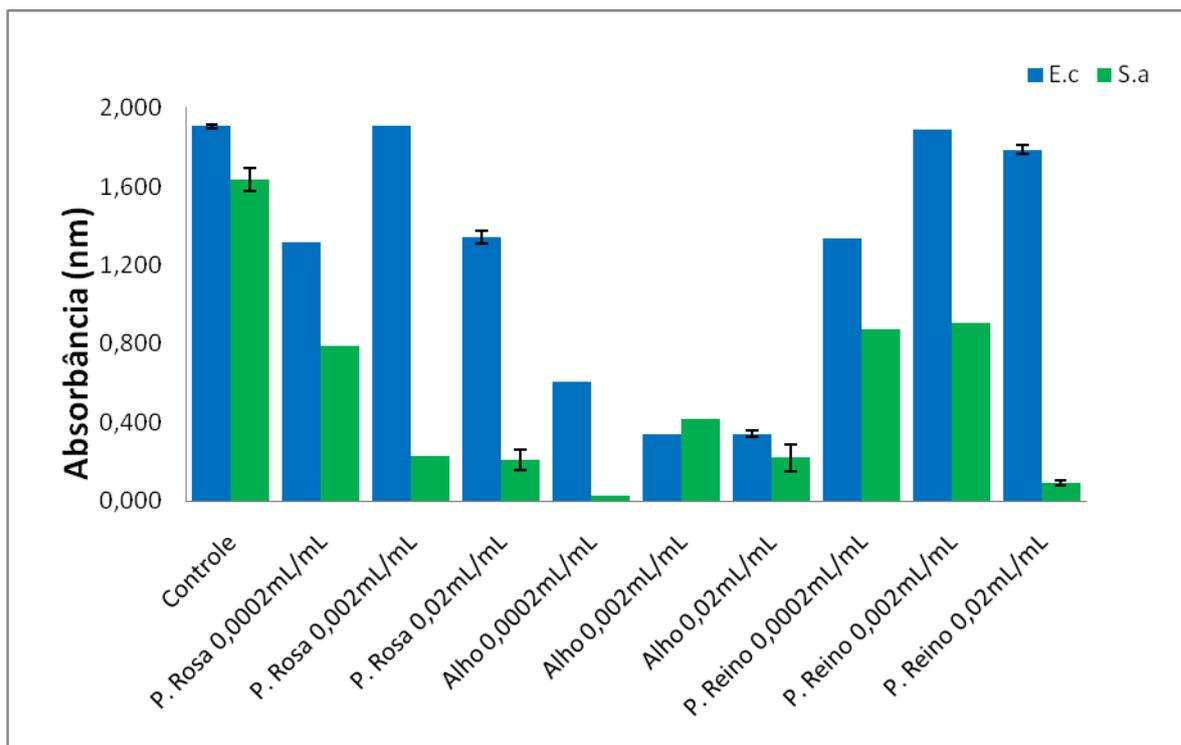
A presença de microorganismos patogênicos e suas toxinas, como *Escherichia coli*. (MOREIRA et al., 2005), causa sérios problemas à saúde dos consumidores, além de reduzir a vida útil dos alimentos, provocando grandes perdas econômicas. (SOUZA et al., 2003).

A bactéria *Staphylococcus aureus* é um importante patógeno devido à sua virulência, resistência aos antimicrobianos e associação a várias doenças, incluindo enfermidades. Esta bactéria habita a pele, a orofaringe e com frequência a nasofaringe do ser humano, a partir da qual pode facilmente contaminar as mãos do homem e contaminar o alimento, devido à falta de cuidado dos manipuladores, como a não obediência das boas práticas e lavagem incorreta das mãos (XAVIER et al., 2007).

Ainda de acordo com o mesmo autor, o *Staphylococcus aureus* é considerado o segundo ou terceiro mais comum patógeno causador de intoxicação alimentar, perdendo em número apenas para *Salmonella sp.* e competindo com o *Clostridium perfringens*.

A figura 1 mostra os resultados obtidos para o teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos essenciais de pimenta rosa, alho e pimenta do reino em diferentes concentrações.

Figura 1 - Teste de Concentração Inibitória Mínima – CIM.



Fonte: Autor, 2013.

Pode-se verificar que todos os óleos testados apresentaram atividade antimicrobiana para ambas as bactérias testadas, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, que foi demonstrada pela redução da absorbância quando comparada com a amostra controle.

O óleo essencial de pimenta rosa demonstrou maior efeito para a bactéria *S. aureus* em comparação a *E. coli*. Observa-se que para a *E. coli* um aumento da concentração de óleo essencial não teve uma relação proporcional de diminuição do crescimento das bactérias. Vale ressaltar que bactérias gram-positivas possuem parede celular com características diferentes e como consequência comportamento e resistência diferentes para o mesmo composto.

Segundo Kalemba & Kunicka (2003), isso ocorre porque geralmente, bactérias gram-positivas são mais susceptíveis à ação dos óleos essenciais do que bactérias gram-negativas. Bactérias gram-negativas apresentam maior resistência à ação de agentes antimicrobianos por terem uma superfície hidrofílica na membrana externa rica em lipopolissacarídeos, formando uma barreira contra as macromoléculas hidrofóbicas presentes em alguns óleos essenciais e antibióticos. Esse efeito também foi comprovado em um estudo realizado por Dorman & Deans (2000).

O óleo essencial de alho apresentou o melhor resultado, sendo o mais indicado para uso em cortes de aves temperados por ter a maior atividade antimicrobiana tanto para *E. coli* quanto para *S. aureus*. Observou-se que a menor concentração testada 0,0002 mL/mL seria a concentração ideal para uso contra bactérias do tipo *S. aureus*, onde observou-se uma redução de quase 100%. O fato desse resultado ser observado na menor concentração pode ser devido ao óleo essencial de alho ser muito viscoso o que dificulta sua dispersão no meio e a agitação usada no teste serve apenas para fornecer oxigênio as bactérias, logo um aumento da concentração, muitas vezes pode dificultar o maior contato entre o óleo e as bactérias, já que a medida que há um aumento da concentração o mesmo se agrega e a área de contato é menor. Como as bactérias gram-positivas possuem comportamento diferente das gram-negativas quando testadas com mesmo composto, pode-se explicar a diferença observada quando comparado o resultado com a *E. coli* onde o maior efeito foi observado nessa concentração.

Para o óleo essencial de pimenta do reino observou-se que o melhor resultado foi para a bactéria *S. aureus*, cuja redução de crescimento foi de aproximadamente 95% para a concentração de 0,02mL/mL. Vale ressaltar, que para as menores concentrações também observou-se redução no crescimento de *E. coli* de aproximadamente 30%. Dessa forma esse óleo essencial também apresenta grande potencial de aplicação.

Em relação às particularidades do óleo, algumas pesquisas a respeito de sua composição mostram que mesmo variações genéticas intraespecíficas da espécie vegetal podem alterar o teor do princípio ativo presente no óleo. Ademais, outros fatores, como clima, solo, época e forma de plantio, adubação, uso de agrotóxicos, irrigação, tempo e condições ambientais, proveniência do material da planta (fresco ou seco), técnica de extração, fonte botânica, tratamentos culturais e colheita e padrões de variação geográfica (latitudes e longitudes) afetam a composição química dos óleos, podendo provocar alterações na atividade antimicrobiana. (NASCIMENTO et al., 2007).

De acordo com Moreira et al. (2010) e Steurer (2008), a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais é clara, mas o mecanismo de ação antimicrobiana ainda não está completamente entendido. Há consenso de que os compostos aromáticos e fenólicos são os principais responsáveis pela atividade antimicrobiana, onde exercem seus efeitos diretamente na membrana citoplasmática, provocando

alterações na sua estrutura e funções. Os mesmos autores afirmam que componentes presentes em menor quantidade também desempenham seu papel importante, envolvendo-se em interações sinérgicas com os compostos fenólicos. Ainda de acordo com Steurer (2008), esses mecanismos não funcionam como alvos separados e podem ocorrer em consequência dos outros.

Quanto à quantidade de óleos essenciais a ser empregada, Burt (2004), afirma que varia muito conforme o sabor e, além disso, a eficiência relativa muda conforme a composição do produto, bem como a metodologia empregada nos ensaios também gera dificuldades de comparação entre os resultados obtidos.

5. Considerações Finais

Através dos resultados obtidos e estudos microbiológicos já realizados, pode-se concluir e afirmar que os óleos essenciais de alho, pimenta rosa e pimenta do reino possuem atividade bacteriostática, podendo ser utilizados como aditivos em cortes de frango temperados, atuando na prevenção da deterioração por microrganismos e consequentemente aumentando a vida de prateleira dos mesmos.

Pode-se afirmar ainda que, dentre os três óleos essenciais testados, o óleo mais indicado para o uso em cortes de frango temperados é de alho, pois apresentou maior potencial antimicrobiano tanto para *S. aureus* quanto para *E. coli*.

Através da utilização dos óleos essenciais em cortes temperados, pode-se oferecer ao consumidor final produtos com conservantes naturais na substituição dos aditivos sintéticos, atendendo a demanda de consumidores que vem crescendo muito nos últimos tempos que optam por produtos mais naturais.

Como sugestão para trabalhos futuros, pode-se citar a aplicação de diferentes concentrações dos óleos essenciais analisados em cortes de frango temperados, seguido de análise sensorial para verificar os níveis de aceitação dos mesmos e a vida de prateleira.

6. Referências Bibliográficas

BRASIL. **ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº. 104 de 14 de maio de 1999. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em 19 de agosto de 2011.

BURT, S.A. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, p.223-253, 2004.

BOEING, Guido. **Alho**. Florianópolis: Cepa, 1995. 113 p.

DORMAN, H.J.D.; DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oil. **Journal of Applied Microbiology**, v.83, p. 308-316, 2000.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Current Medicinal Chemistry**, v.10, p.813-829, 2003.

LANGHOUT, P. Alternativas ao uso de quimioterápicos na dieta de aves: A visão da indústria e recentes avanços. In CONFERENCIA APINCO DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, 2005. Santos, **Anais...** Santos: FACTA, 2005.

MARANCA, Guido. **Plantas aromáticas na alimentação**. São Paulo: Ed. Nobel, 1985. 123 p.

MOREIRA, M. R., PONCE, A. G., VALLE, C. E., & ROURA, S. I. (2005), *apud* BARBOSA, Lidiane Nunes. Propriedade **antimicrobiana de óleos essenciais de plantas condimentares com potencial de uso como conservante em carne e hambúrguer bovino e testes de aceitação**. 2010. 121 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia, Instituto de Biotecnologia, Universidade Estadual Paulista, 2010.

NASCIMENTO, P.F.C.; NASCIMENTO, A.C.; RODRIGUES, C.S.; ANTONIOLLI, A.R.; SANTOS, P.O.; BARBOSA JR., A.M.; TRINDADE, R.C., **Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos**. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, V. 17, 2007, p. 108-113.

NCCIS Testes de susceptibilidade antimicrobiana de *Acinetobacter* spp. pelo NCCLS Microdiluição caldo e difusão em disco. **J Clin Microbiol**, v.42, n. 11, p. 5102-5108, 2003.

OETTING, L.L. Extratos vegetais como promotores do crescimento de leitões recém-desmamados. Tese de doutorado em Agronomia. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2005.

OLIVO, Rubison (Ed.). **O mundo do frango: cadeia produtiva da carne de frango.** Criciúma, SC: Ed. do autor, 2006.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. **Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais.** Revista Brasileira de Farmacognosia, João Pessoa, v.18, n.2, p. 301-307, 2008.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Porto Alegre: Ed. da UFSC, 1999.

SOUZA, Evandro Leite *et al.* Especiarias: uma alternativa para o controle da qualidade sanitária e de vida útil de alimentos, frente às novas perspectivas da indústria alimentícia. **Higiene Alimentar**, v.17, n.113, p. 38-42, 2003.

STEURER. F. **Especiarias: aplicações e propriedades.** 2008. 31 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Química de alimentos, Universidade Federal de Pelotas RS, 2008.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. **Microbiologia.** 8.ed Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p.

WATANABE, Tadashi; GODINHO, Alba (Trad.). **Alho - terapia.** 4. ed. Rio de Janeiro: Ed. Civilização Brasileira, 1983. 85 p.

XAVIER et al. Prevalência de *Staphylococcus aureus* em manipuladores de alimentos das creches municipais da cidade de Natal. **RBAC**, vol. 39, nº3, p. 165-168, 2007.