

# ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CAFÉ VERDE E TORRADO (*Coffea arabica*), CACAU (*Theobroma cacao*), CASCA E FOLHA DE CANELA-DO-CEILÃO (*Cinnamomum zeylanicum*).

**Leticia Farag Salviano**

**Mairto Roberis Geromel**

**Maria Luiza Silva Fazio**

Instituto Municipal de Ensino Superior. Catanduva, SP

leehfarag@hotmail.com

## RESUMO

Diversos conservantes naturais têm sido utilizados na inativação de micro-organismos, sem efeitos adversos com relação aos valores nutricionais dos alimentos e da saúde humana. Entretanto, estudos apontam reações adversas aos aditivos sintéticos, tais como reações tóxicas e o possível desenvolvimento de cânceres específicos. A busca por agentes antimicrobianos naturais em alternativa aos conservantes sintéticos tem sido constante; a fim de proporcionar o controle microbiológico e a extensão da vida de prateleira, excluindo, portanto, as desvantagens trazidas pelo uso de aditivos artificiais, através de ação antimicrobiana de óleos essenciais. O objetivo do trabalho foi verificar a ação antibacteriana dos óleos essenciais de café verde e torrado

(*Coffea arabica*), cacau (*Theobroma cacao*), casca e folha de canela-do-Ceilão (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre as bactérias *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium. Os óleos essenciais foram impregnados em discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro, próprios para antibiograma; sendo posteriormente colocados em placas de Petri contendo Ágar Nutriente previamente semeado com os micro-organismos. As mesmas foram incubadas a 35°C por 24 e 48 horas. Após este período foi possível observar e medir o diâmetro dos halos e, halos iguais ou superiores a 10 mm foram considerados significativos de atividade antimicrobiana. Os óleos essenciais de cacau, canela casca e canela folha inibiram significativamente todos os

micro-organismos testados. *E. coli* foi inibida significativamente por todos os óleos essenciais. O óleo essencial de canela casca demonstrou os melhores efeitos inibitórios, sendo o mais significativo sobre a *E. coli* (halo de 36 mm).

**Palavras-chave:** Ação antimicrobiana. *E. coli*. Inibição.

## ABSTRACT

Several natural conservatives have been used in inactivating microorganisms, with no adverse effects on nutritional values of food and human health. Studies point to adverse reactions to other synthetic ones, such as toxic reactions and the specific development of specific cancers. The search for natural antimicrobial agents in synthetic preservatives has

been constant; In order to provide the microbiological control and a prolongation of the shelf life, thus excluding, as disadvantages brought about by the use of artificial additives, through the antimicrobial action of essential oils. The objective of this study was to verify the antibacterial action of Ceylon cinnamon bark and leaf (*Cinnamomum zeylanicum*), green and roasted coffee (*Coffea arabica*) and cocoa (*Theobroma cacao*) essential oils on *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Enteritidis* and *Salmonella Typhimurium*. The essential oils were impregnated in filter paper disks of 6 mm in diameter, suitable for antibiogram; being later placed in Petri dishes containing Nutrient Agar previously seeded with the microorganisms. They were incubated at 35 °C for 24 and 48 hours. After this period it was possible to observe and measure the diameter. Halos equal to or greater than 10 mm were considered significant antimicrobial activity. The essential oils of cocoa, cinnamon bark and cinnamon leaf inhibited significantly by all micro-organisms tested. *E. coli* was significantly inhibited by all essential oils. The essential oil of bark cinnamon demonstrated the best inhibitory effects, being the most significant on *E. coli* (halo of 36 mm).

**Keywords:** Antimicrobial action. *E. coli*. significant inhibition.

## INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são substâncias complexas, de poder volátil e fragrância variável, constituídos por centenas de substâncias químicas, como álcoois, aldeídos, ésteres, fenóis e hidrocarbonetos (CORAZZA, 2004). A atividade dos óleos essenciais engloba ação fitoterápica, antiviral, antisséptica, nutricional,

antifúngica, entre outras. A atividade bacteriostática e/ou bactericida dos mesmos é exercida principalmente por compostos terpenoides (SILVA et al., 2011).

Os óleos essenciais de canela e casca do Ceilão (*Cinnamomum verum*) são extraídos através da destilação a vapor. O cinamaldeído é o principal constituinte do óleo essencial extraído das folhas de canela e fornece o odor e sabor característicos da espécie, sendo utilizado mundialmente como aditivo alimentar e aromatizante dos alimentos, não apresenta efeitos potencialmente adversos à saúde humana (ULRICH, 2004).

Os compostos bioativos do café (*Coffea arabica*), casfestol e kawool, têm produzido uma ampla gama de efeitos bioquímicos que resultam na redução da gene toxicidade de vários carcinomas (FARAH et al., 2001). Quanto ao cacau, (*Theobroma cacao*), o óleo essencial extraído da casca tem como benefícios uma alta atividade antioxidante, atividade cardioprotetora e anti-inflamatória. Outros efeitos positivos para a saúde são as propriedades anticarcinogênicas, (previne o câncer), antimicrobiana, analgésica e vasodilatadora (WOLLGAST; ANKLAN, 2000; GOTTI et al., 2006).

A tecnologia aplicada pela indústria tem gerado questionamentos quanto à segurança do emprego de aditivos alimentares químicos como corantes e conservantes e, estudos apontam reações adversas pelo seu uso, quer seja aguda ou crônica, tais como reações tóxicas no metabolismo, desencadeantes de alergias e carcinogenicidade observada a longo prazo (MOUTINHO; BERTGES; ASSIS, 2007).

Nas últimas décadas, diversos conservantes naturais têm sido estudados para aplicação prática, e utilizados na inativação de enzimas e micro-organismos sem efeitos adversos

significativos das propriedades nutricionais e organolépticas dos alimentos. Os agentes antimicrobianos naturais podem oferecer vantagens para o processamento de alimentos (MACHADO; BORGES; BRUNO, 2011).

O objetivo deste trabalho foi verificar a ação antibacteriana dos óleos essenciais de café verde e torrado (*Coffea arabica*), cacau (*Theobroma cacao*), casca e folha de canela-do-ceilão (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre as bactérias *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Enteritidis* e *Salmonella Typhimurium*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados óleos essenciais de cinco diferentes especiarias, de café verde e torrado; cacau e, casca e folha de canela do Ceilão. No laboratório cada amostra recebeu uma identificação: café verde (CV), café torrado (CT), cacau (CA), canela casca (CC), canela folha (CF).

Discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro foram adicionados às soluções, as quais foram mantidas sob agitação por 30 minutos. Os micro-organismos *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Enteritidis*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* foram previamente semeados em Caldo Nutriente e incubados a 35°C por 24 horas. A seguir, foram semeados na superfície de placas de Petri contendo Ágar Nutriente. As análises foram realizadas em duplicata. Na sequência, os discos saturados com a solução foram colocados no centro das placas; sendo as mesmas incubadas a 35°C por 24 e 48 horas. Após este período foi possível observar e medir o diâmetro do halo de inibição. Diâmetros de halos iguais ou superiores a 10 mm foram considerados significativos de atividade

**Tabela 1** - Determinação da atividade antibacteriana de óleos essenciais, impregnados em discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro; incubação a 35°C/24 horas; expressa como halo de inibição em mm.

	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>
<b>Canela Casca</b>	<b>36</b>	<b>32</b>	<b>30</b>	<b>23</b>	<b>30</b>	<b>35</b>
<b>Canela Folha</b>	<b>18</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>18</b>	<b>23</b>	<b>29</b>
<b>Cacau</b>	<b>13</b>	<b>20</b>	<b>14</b>	<b>13</b>	<b>18</b>	<b>13</b>
<b>Café Torrado</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	0	<b>12</b>	<b>13</b>	0
<b>Café Verde</b>	<b>10</b>	8	7	8	0	0

**Tabela 2** - Determinação da atividade antibacteriana de óleos essenciais, impregnados em discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro; incubação a 35°C/48 horas; expressa como halo de inibição em mm.

	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. aureus</i>
<b>Canela Casca</b>	<b>36</b>	<b>32</b>	<b>30</b>	<b>23</b>	<b>30</b>	<b>35</b>
<b>Canela Folha</b>	<b>18</b>	<b>21</b>	<b>22</b>	<b>18</b>	<b>23</b>	<b>29</b>
<b>Cacau</b>	<b>13</b>	<b>20</b>	<b>14</b>	<b>13</b>	<b>18</b>	<b>13</b>
<b>Café torrado</b>	<b>10</b>	<b>11</b>	0	<b>12</b>	<b>13</b>	0
<b>Café Verde</b>	<b>10</b>	8	7	8	0	0

antimicrobiana, conforme Hoffmann et al. (1999). As cepas empregadas no estudo foram provenientes da coleção do Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), de São José do Rio Preto/SP. São bactérias oriundas da *American Type Culture Collection* (ATCC).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Tabelas 1 e 2 ilustram os resultados obtidos para atividade antimicrobiana dos óleos essenciais.

No que se refere ao *B. cereus*, exerceram atividade antimicrobiana significativa os óleos essenciais de cacau, café torrado, canela folha

e canela casca; sendo a ação mais efetiva exercida pelo óleo essencial de canela casca (halo de 32 mm). Atividade antimicrobiana sobre este micro-organismo também foi observada por Cattelan (2012), ao testar óleo essencial de orégano. Sá et al. (2014), ao testarem os extratos seco e hidro alcoólico da planta unha de gato sobre o micro-organismo em questão também observaram ação significativa. Em trabalho realizado por outros pesquisadores, o extrato hidro alcoólico de *Campomanesia xanthocarpa* var. littoralis (gabiobia amarela) apresentou atividade antimicrobiana sobre *B. cereus* (VER-RUCK et al., 2013); assim como o extrato hidro alcoólico de Boldo-Chinês (SANTOS et al., 2014).

Com relação a *B. subtilis*, ação antibacteriana significativa foi exercida pelos óleos essenciais de cacau, canela casca e canela folha. A melhor ação foi verificada para o óleo essencial de canela casca (halo de 30 mm). Resultado semelhante foi observado por Arrais et al. (2014), ao testarem extratos metanólicos da raiz, caule e folhas de zabelê sobre este micro-organismo. Em pesquisa desenvolvida por Leite et al. (2013) verificou-se atividade antimicrobiana do extrato de *mandapuça-branco* sobre *B. subtilis*.

Todos os óleos essenciais testados demonstraram atividade antimicrobiana eficaz sobre *E. coli*. A melhor ação foi observada para o óleo essencial de canela casca (halo de 36 mm).

Ação antibacteriana significativa também foi verificada por Millezi et al. (2013), ao testarem óleos essenciais das plantas segurelha-de-inverno, capim-limão e limão siciliano sobre esta bactéria. Atividade eficaz sobre este micro-organismo também foi constatada por outra pesquisadora ao verificar a ação do óleo essencial das folhas de *Croton L. nummularius* Baill. (BASTO, 2014). Ação antimicrobiana dos óleos essenciais de canela, árvore-do-chá e palmarosa sobre esta bactéria também foi constatada (MILLEZI, 2016).

*Salmonella* Enteritidis foi inibida significativamente pelos óleos essenciais de cacau, café torrado, canela casca e canela folha. A melhor ação foi observada para aquele de canela casca (halo de 23 mm); resultado semelhante foi obtido por Laviniki (2013), ao testar o óleo essencial de canela-da-china. Ação eficaz sobre este micro-organismo também foi observada para os óleos essenciais de folha de manjeriço, pimenta de macaco e tomilho (ALVES, 2010), da mesma forma que para os óleos essenciais de rizomas de açafreão e de gengibre (MAJOLO et al., 2014). Em pesquisa realizada por outros pesquisadores observou-se atividade antibacteriana dos óleos essenciais de manjeriço, manjeriço, capim-limão e hortelã-pimenta sobre esta bactéria (VALERIANO et al., 2012). Os vinagres aromáticos de orégano e tomilho também exerceram atividade inibitória sobre *S. Enteritidis* (TEBALDI, 2013).

No que se refere à *Salmonella* Typhimurium, ação inibitória significativa foi constatada para os óleos essenciais de cacau, café torrado, canela casca e canela folha; sendo a melhor ação observada para o óleo essencial de canela casca (halo de 30 mm). Atividade antimicrobiana foi verificada para o extrato aquoso de manjeriço sobre esta bactéria (SARTORI; GEROMEL; FAZIO, 2015);

assim como para o extrato aquoso de sálvia (FAZIO; MARTINS; GEROMEL, 2015). Em pesquisa realizada por Trevisan et al. (2015) foi constatada a ação do carvacrol (componente do óleo essencial de orégano) sobre a bactéria em questão.

*Staphylococcus aureus* foi inibido significativamente pelos óleos essenciais de cacau, canela casca e canela folha. Ação antibacteriana mais eficaz foi verificada para o óleo essencial de canela casca (halo de 35 mm), resultado semelhante foi observado por outros pesquisadores para ação do óleo essencial de canela-da-china (FREIRE et al., 2014). Trabalhos realizados por outros pesquisadores também verificaram ação inibitória de diferentes substâncias sobre tal bactéria: extrato etanólico de babosa seca (BURATTO, 2013), óleo essencial de folhas de gengibre-concha (MOREIRA et al., 2013), carvacrol e thymol (SILVA et al., 2015) e extrato de alecrim do campo (FERREIRA; BERRETTA; MARTINS, 2015).

## CONCLUSÃO

Os óleos essenciais de cacau, canela casca e canela folha inibiram significativamente todos os micro-organismos testados. *E. coli* foi inibida significativamente por todos os óleos essenciais. O óleo essencial de canela casca demonstrou os melhores efeitos inibitórios, sendo o mais significativo sobre *E. coli* (halo de 36 mm).

Os óleos essenciais de café verde e torrado não demonstraram resultado significativo sobre as bactérias *B. cereus*, *B. subtilis*, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* e *S. aureus*.

## REFERÊNCIAS

ARRAIS, LG et al. Atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos da raiz, caule e folhas de *Croton pulegioides* Baill. (Zabelê). **Rev Bras Plantas**

**Medicinais.** v.16, n.2, p.316-322, 2014.

ALVES, RS. **Avaliação da atividade antimicrobiana entre óleos essenciais obtidos de folhas de manjeriço, pimenta de macaco e tomilho sobre patógenos veiculados por alimentos.** Lavras. 2010. 71 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, 2010.

BASTO, SRL. ***Croton nummularius* Baill. (EUPHORBIACEAE): Composição Química, Atividade Biológica, Antioxidante e Toxicidade Preliminar dos Óleos Essenciais.** Recife, 2014. 46 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco, 2014.

BURATTO, AP. **Avaliação da Atividade Antibacteriana de Extratos Etanólicos de Babosa (*Aloe vera*).** Florianópolis, 2013. 56 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Santa Catarina, 2013.

CATTELAN, MG. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias em alimentos.** São José do Rio Preto, 2012. 58 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2012.

CORAZZA, S. IV Os óleos essenciais; **Aromacologia uma ciência de muitos cheiros.** 2. Ed. São Paulo: Senac São Paulo, 2004. p. 69-112.

FARAH, A et al. Compostos fenólicos em café torrado. In: II simpósio de pesquisa dos cafés do Brasil, 2001, Vitória, **Anais...** Vitória: Consorcio Pesquisa Café, 2001.

FAZIO, ML; MARTINS, TV; GEROMEL, MR. Antimicrobial Activity of Different Spices. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 28, 2015, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Centro Sul – Centro de Convenções de Florianópolis, 2015. p. 3-2.

FERREIRA, NUB; BERRETTA, AA;

- MARTINS, ECP. Chemical Composition, Cytotoxicity and Antimicrobial Activity of Extract From Brazilian Green Propolis. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 28, 2015, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Centro Sul – Centro de Convenções de Florianópolis, 2015. p.421-1.
- FREIRE, ICM et al. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Rev Bras de Plantas Mediciniais**, v.16, n.2, p.25-30, 2014.
- GOTTI, R et al. Analysis of catechins in Theobroma cacao beans by cyclodextrin-modified micellarelectrokinetic chromatography. **Journal of Chromatography**, New York, v.1112, n.36, p.345 - 352, 2006.
- HOFFMANN, FL; SOUZA, SJF; GARCIA-CRUZ, CH; VINTURIM, TM; DUTRA, AL. Determinação da atividade antimicrobiana “in vitro” de quatro óleos essenciais de condimentos e especiarias. **Boletim CEPPA**, v.17, n.1, p.11-20, 1999.
- LAVINIKI, V. **Atividade Antibacteriana In vitro dos Óleos Essenciais de Canela da China (*Cinnamomum cassia*), Orégano (*Origanum vulgare*), Pimenta negra (*Piper nigrum*) e Tomilho (*Thymus vulgaris*) branco frente à amostras de *Salmonella* Enterica isoladas de aves**. Porto Alegre, 2013. 51 f. Dissertação (Mestre em Ciências Veterinárias, especialidade na área de Patologia Aviária) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de veterinária, 2013.
- LEITE, TCC et al. Avaliação da Atividade Antimicrobiana de *Miconia prasina* (Sw) DC. In: Congresso Internacional de Ciências Biológicas, Congresso Nacional de Ciências Biológicas, Simpósio de Ciências Biológicas, 28, 2013, Recife. **Anais...** Recife: Universidade Católica de Pernambuco, 2013, p. 410-1.
- MACHADO, TF; BORGES, MF; BRUNO, LM. Aplicação de antimicrobianos naturais na conservação de alimentos. **Embrapa Agroindústria Tropical**, v.32, n.16, p.10, 2011.
- MAJOLO, C et al. Atividade Antibacteriana do Óleo Essencial de Rizomas de Açafrão (*Curcuma longa* L.) e Gengibre (*Zingiber officinale Roscoe*) frente a *Salmonellas* Entéricas isoladas de frango resfriado. **Rev Bras de Plantas Mediciniais**, v.16, n.3, p.505-512, 2014.
- MILLEZI, AF et al. Sensibilidade de bactérias patogênicas em alimentos a óleos essenciais de plantas medicinais e condimentos. **Rev Hig Alimentar**, v.30, n.255, p.117-122, 2016.
- MILLEZI, AF et al. Caracterização e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Rev Bras de Plantas Mediciniais**, v.15, n.3, p.373-379, 2013.
- MOREIRA, ACD et al. Atividade Antimicrobiana, *In vitro*, do Óleo Essencial das Folhas de *Alpinia zerumbet*. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 27, 2013, Natal. **Resumo...** Natal: Centro de Convenções de Natal, 2013, p. 34-1.
- MOUTINHO, ILS; BERTGES, LC; ASSIS, RVC. Prolonged use of food dye tartrazine (FD&C yellow nº5) and its effects on the gastric mucosa of Wistar rats. **Braz Journal Biologic**, v.67, n.3, p.141 - 5, 2007.
- SÁ, DS et al. **Atividade Antimicrobiana da *Uncaria Tomentosa* (Willd) D. C.** Alfenas, 2014. 6 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Farmácia e de Biomedicina) - Universidade José do Rosário Vellano, 2014.
- SANTOS, LA et al. **Determinação da Atividade Antimicrobiana do Extrato Hidroalcoólico da Planta *Plectranthus ornatus codd* (BOLDO CHINÊS)**. Alfenas, 2014. 11 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade José do Rosário Vellano, 2014.
- SARTORI, NP; GEROMEL, MR; FAZIO, MLS. Atividade antibacteriana de extratos de ervas aromáticas. **Rev Hig Alimentar**, v.29, n.242/243, p.126-129, 2015.
- SILVA, AF et al. **Assessment of Antimicrobial Activity of Carvacrol and Thymol Against *Staphylococcus aureus***. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 28, 2015, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Centro Sul – Centro de Convenções de Florianópolis, 2015. p. 1483-1.
- SILVA, F et al. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: its antibacterial activity and mode of action evaluated by flow cytometry. **Journal of Medical Microbiology**, v.306, n.6, p.110-114, 2011.
- TEBALDI, VMR et al. Avaliação da Atividade Antibacteriana de Vinagre Aromático Elaborado com Óleos Essenciais. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 27, 2013, Natal. **Resumo**. Natal: Centro de Convenções de Natal, 2013, p.718-1.
- TREVISAN, DA et al. Antimicrobial Activity of Carvacrol on *Salmonella* Typhimurium. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 28, 2015, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Centro Sul – Centro de Convenções de Florianópolis, 2015. p. 849-1.
- ULRICH, HNA. Relação dos óleos essenciais. **Manual Prático de Aromaterapia**. Porto Alegre. Editora Premer, 2004, v.2, n.1, p.68 - 167.
- VALERIANO, C et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Rev Bras de Plantas Mediciniais, Botucatu**, v.14, n.1, p.57-67, 2012.
- VERRUCK, S et al. Atividade antimicrobiana do extrato dos frutos de *Campomanesia xanthocarpa* var. *littoralis* frente a microrganismos de interesse em alimentos. In: Congresso Brasileiro de Microbiologia, 27, 2013, Natal. **Resumo...** Centro de Convenções de Natal, 2013, p. 837-2.
- WOLLGAST, J; ANKLAN, E. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? **Food Research International, Essex**, v.33, n.6, p.449-459, 2000.