

**Filmes de Acetato de Celulose Incorporados  
de Óleos Essenciais com Atividade  
contra Microrganismos Patogênicos e  
Deterioradores de Alimentos**



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Agroindústria Tropical  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# ***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 116***

## **Filmes de Acetato de Celulose Incorporados de Óleos Essenciais com Atividade contra Microrganismos Patogênicos e Deterioradores de Alimentos**

*Maria de Fatima Borges  
Maria do Socorro Rocha Bastos  
Kirley Marques Canuto  
Rita de Cássia Alves Pereira  
Larissa da Silva Laurentino  
Erika Patrícia Chagas Gomes  
Sarah Maria Frota Silva  
Bruna Santana das Chagas  
Adroaldo Guimarães Rossetti  
Tigressa Helena Soares Rodrigues  
Francisco das Chagas Oliveira Freire*

**Embrapa Agroindústria Tropical**  
Fortaleza, CE  
2016

**Unidade responsável pelo conteúdo e edição:**

Embrapa Agroindústria Tropical  
Rua Dra. Sara Mesquita 2270, Pici  
CEP 60511-110 Fortaleza, CE  
Fone: (85) 3391-7100  
Fax: (85) 3391-7109  
www.embrapa.br/agroindustria-tropical  
www.embrapa.br/fale-conosco

**Comitê de Publicações da Embrapa Agroindústria Tropical**

Presidente: *Gustavo Adolfo Saavedra Pinto*  
Secretária-executiva: *Celli Rodrigues Muniz*  
Secretária-administrativa: *Eveline de Castro Menezes*  
Membros: *Janice Ribeiro Lima, Marlos Alves Bezerra, Luiz Augusto Lopes Serrano, Marlon Vagner Valentim Martins, Guilherme Julião Zocolo, Rita de Cássia Costa Cid, Eliana Sousa Ximendes*

Supervisão editorial: *Sérgio César de França Fuck Júnior*

Revisão de texto: *Marcos Antônio Nakayama*

Normalização: *Rita de Cássia Costa Cid*

Capa: *Tigressa Helena Soares Rodrigues*

Editoração eletrônica: *Arilo Nobre de Oliveira*

**1ª edição**

On-line (2016)

**Todos os direitos reservados**

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Embrapa Agroindústria Tropical

---

Filmes de acetato de celulose incorporados de óleos essenciais com atividade contra microrganismos patogênicos e deterioradores de alimentos / Maria de Fatima Borges... [et al.] – Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2016.

26 p.; il.: 15 cm x 21 cm. – (Boletim de pesquisa e desenvolvimento / Embrapa Agroindústria Tropical, ISSN 1679-6543; 116).

Publicação disponibilizada on-line no formato PDF.

1. *Cymbopogon citratus*. 2. *Lippia origanoides*. 3. *Ocimum gratissimum*. 4. *Ocimum selloi*. I. Borges, Maria de Fatima. II. Bastos, Maria do Socorro Rocha. III. Canuto, Kirley Marques. IV. Pereira, Rita de Cássia Alves. V. Laurentino, Larissa da Silva. VI. Gomes, Erika Patrícia Chagas. VII. Silva, Sarah Maria Frota. VIII. Chagas, Bruna Santana das. IX. Rossetti, Adroaldo Guimarães. X. Rodrigues, Tigressa Helena Soares. XI. Freire, Francisco das Chagas Oliveira. XII. Série.

CDD 661.806

---

© Embrapa 2016

# Sumário

<b>Resumo .....</b>	<b>4</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>6</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>8</b>
<b>Material e Métodos.....</b>	<b>9</b>
<b>Resultados e Discussão.....</b>	<b>13</b>
<b>Conclusão .....</b>	<b>22</b>
<b>Referências .....</b>	<b>23</b>

# Filmes de Acetato de Celulose Incorporados de Óleos Essenciais com Atividade contra Microrganismos Patogênicos e Deterioradores de Alimentos

*Maria de Fatima Borges<sup>1</sup>*

*Maria do Socorro Rocha Bastos<sup>2</sup>*

*Kirley Marques Canuto<sup>3</sup>*

*Rita de Cássia Alves Pereira<sup>4</sup>*

*Larissa da Silva Laurentino<sup>5</sup>*

*Erika Patrícia Chagas Gomes<sup>6</sup>*

*Sarah Maria Frota Silva<sup>7</sup>*

*Bruna Santana das Chagas<sup>8</sup>*

*Adroaldo Guimarães Rossetti<sup>9</sup>*

*Tigressa Helena Soares Rodrigues<sup>10</sup>*

*Francisco das Chagas Oliveira Freire<sup>11</sup>*

## Resumo

Os óleos essenciais (OE) possuem uma ampla variedade de compostos bioativos contra microrganismos patogênicos e deterioradores de alimentos (MPDA). Devido à tendência mundial de reduzir ou eliminar o uso de conservantes sintéticos em alimentos, vários OE foram testados como bioconservantes para aumentar a vida de prateleira e segurança de produtos alimentícios sob a forma de ingrediente ou

---

<sup>1</sup> Farmacêutica, D.Sc. em Tecnologia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, maria.fatima@embrapa.br

<sup>2</sup> Engenheira de alimentos, D.Sc. em Ciências e Tecnologia de Alimentos, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, socorro.bastos@embrapa.br

<sup>3</sup> Farmacêutico, D.Sc. em Química, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, kirley.canuto@embrapa.br

<sup>4</sup> Engenheira-agrônoma, D.Sc. em Agronomia, pesquisadora da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, rita.pereira@embrapa.br

<sup>5</sup> Graduanda em Engenharia de Alimentos, bolsista da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, larissasilva9@hotmail.com

<sup>6</sup> Engenheira de alimentos, mestranda em Engenharia Química pela Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, erikapatriciagomes@alu.ufc.br

<sup>7</sup> Graduanda em Engenharia de Alimentos, bolsista da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, sarahfrota1@hotmail.com

<sup>8</sup> Engenheira de alimentos, bolsista DTI CNPq/Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, brunasantana\_chagas@hotmail.com

<sup>9</sup> Matemático, D.Sc. em Engenharia e Gestão do Conhecimento, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, adroaldo.rossetti@embrapa.br

<sup>10</sup> Engenheira química, D.Sc. em Engenharia Química, técnica da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, tigressa.rodrigues@embrapa.br

<sup>11</sup> Engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Agronomia, pesquisador da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, francisco.o.freire@embrapa.br

adicionados em embalagens comestíveis. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana in vitro dos óleos de alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunt), alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) e elixir-paregórico (*Ocimum selloi* Benth), nas formas livre e incorporada a filmes de acetato de celulose (AC), sobre o crescimento de MPDA. Os óleos, previamente extraídos de folhas frescas por hidrodestilação, foram analisados por cromatografia a gás acoplada a espectrometria de massas e detecção por ionização em chama. Em seguida, os óleos livres e seus respectivos filmes de AC foram testados quanto à atividade antimicrobiana sobre *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Enteritidis, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger* e *Penicillium* spp. pelo método de difusão em ágar, usando-se diferentes concentrações de EO (0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,50%; 25%; 50% e 100%). Em geral, os OE apresentaram atividade antimicrobiana a partir da concentração de 6,25%, exceto o óleo *O. selloi*, que demonstrou baixo efeito antimicrobiano em todos os ensaios. O óleo *O. gratissimum* foi o mais efetivo na inibição do crescimento microbiano para a maioria dos microrganismos. Para *S. cerevisiae*, *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella* Enteritidis, o referido óleo exibiu efeitos antibacteriano e antifúngico a partir da concentração de 3,12%. O óleo *C. citratus* inibiu *L. monocytogenes* em todas as concentrações avaliadas. O óleo *L. origanoides* também apresentou potente ação inibitória sobre *S. cerevisiae* e *Salmonella* Enteritidis nas concentrações de 3,12% e 6,25%, respectivamente. Da mesma forma, filmes de acetato de celulose incorporados com 10% e 20% dos óleos *C. citratus*, *L. origanoides* e *O. gratissimum* demonstraram eficiência antimicrobiana semelhante, indicando potencial desse polímero como embalagem ativa para alimentos.

Termos para indexação: *Cymbopogon citratus*, *Lippia origanoides*, *Ocimum gratissimum*, *Ocimum selloi*, filme antimicrobiano.

# Essential Oils-Embedded Cellulose Acetate Films with Activity against Pathogenic and Food Spoilage Microorganisms

---

## Abstract

*Essential oils (EO) have a wide variety of antimicrobial compounds against pathogenic and food spoilage microorganisms (PFSM). Due to the worldwide trend to reduce or eliminate the use of synthetic preservatives in food, various EO have been tested as biopreservatives to increase the shelf life and safety of food products, adding them either directly or into edible packaging. In this sense, the aim of this study was to evaluate in vitro antimicrobial activity of "alecrim-pimenta" (Lippia organoides Kunt), clove basil (Ocimum gratissimum L.), lemon grass (Cymbopogon citratus (DC) Stapf) and "elixir paregórico" (Ocimum selloi Benth) oils, free and incorporated to cellulose acetate films (CA), on the microbial growth of PFSM. The oils, previously extracted from fresh leaves by hydrodistillation, were analyzed through gas chromatography coupled with mass spectrometry and flame ionization detection. Later on, EO were assayed for antimicrobial activities against Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Salmonella Enteritidis, Saccharomyces cerevisiae, Aspergillus niger and Penicillium spp. by agar diffusion method, using different EO concentrations (0.78%; 1.56%; 3.12%; 6.25%; 12.50%, 25%, 50% and 100%). In general, OE presented antimicrobial activity at the concentration of 6.25%, except O. selloi*

*oil, which demonstrated low antimicrobial effect in all assays. The O. gratissimum oil was the most effective in inhibiting the microbial growth for the majority of microorganisms. For S. cerevisiae, S. aureus, E. coli and Salmonella Enteritidis, this aforesaid oil exhibited antifungal and antibacterial effects from the concentration of 3.12%. The C. citratus oil inhibited L. monocytogenes in all tested concentrations. L. origanoides oil also demonstrated potent inhibitory action against S. cerevisiae and Salmonella Enteritidis at the concentrations of 3.12% and 6.25%, respectively. Likewise, CA films incorporated with 10% and 20% oil of C. citratus, L. origanoides and O. gratissimum showed similar antimicrobial efficiency, indicating the potential of this biopolymer as an active food packaging.*

*Index terms: Cymbopogon citratus, Lippia origanoides, Ocimum gratissimum, Ocimum selloi, antimicrobial film.*



## Introdução

Os óleos essenciais (OE) possuem uma variedade de compostos com atividade contra fungos e bactérias patogênicas contaminantes de alimentos (CEYLAN; FUNG, 2004; RAHMAN; KANG, 2009; RUNYORO et al., 2010). A atividade antimicrobiana dos OE ocorre ao nível de parede e membrana celular afetando o metabolismo do microrganismo. Contudo, o efeito germicida dos óleos varia também em função do tipo de microrganismo, sendo fungos e bactérias Gram positivas mais susceptíveis do que bactérias Gram negativas (BURT, 2004; BOUKHATEM et al., 2013; HADDOUCHI et al., 2013).

Em razão da demanda dos consumidores pela redução ou eliminação do uso de conservantes, sintetizados quimicamente, em alimentos, muitos OE têm sido explorados como bioconservantes para aumentar a segurança e a vida de prateleira de produtos alimentícios (RAHMAN; KANG, 2009; DJABOU et al., 2013; BOUKHATEM et al., 2013).

O emprego de OE na elaboração de embalagens ativas e filmes comestíveis antimicrobianos tem sido explorado na conservação de alimentos como carne bovina resfriada (ZINOVIADOU et al., 2009), peixe fresco (GÓMEZ-ESTACA et al., 2010), peixe desidratado (MATAN, 2012) e pizza pronta para consumo (BOTRE et al., 2010). Estudos atribuem a atividade antimicrobiana, principalmente, aos compostos fenólicos e monoterpenos; porém, o mecanismo de ação não foi ainda elucidado (TIWARI et al., 2009). Além dos aspectos relacionados à atividade antimicrobiana desses compostos, as pesquisas sobre a aplicação industrial de OE em alimentos devem levar em conta os riscos desses aditivos à saúde do consumidor, e os efeitos sobre o sabor e aroma dos produtos em que eles estão sendo aplicados. Recentemente, OEs têm sido incorporados em filmes ativos de base celulósica visando a sua futura utilização na embalagem de queijos (BASTOS et al., 2013), configurando-se como uma alternativa para minimizar o nível de deterioração dos alimentos em função das tecnologias estabelecidas.

Considerando que as embalagens ativas atuam como barreira para agentes externos, assegurando a qualidade e prolongando a vida de prateleira do produto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* dos óleos essenciais de alecrim-pimenta, alfavaca-cravo, capim-limão e elixir-paregórico, livres e incorporados a filmes de acetato de celulose, sobre o crescimento de microrganismos patogênicos e deterioradores de alimentos.

## Material e Métodos

### Cultivo das plantas aromáticas

As mudas de capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf), alecrim-pimenta (*Lippia origanoides* Kunt), alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum* L.) e elixir-paregórico (*Ocimum selloi* Benth) foram cultivadas, sob cultivo protegido, a partir de sementes e/ou estacas obtidas de plantas matrizes pertencentes ao Horto de Plantas Medicinais e Aromáticas da Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE. As mudas foram preparadas em bandejas contendo substrato apropriado e, após o enraizamento, foram transplantadas para as condições de campo. Para cada espécie, foram plantadas 30 plantas no espaçamento de 1,0 m x 0,5 m. Ao longo do desenvolvimento das plantas, foram adotadas práticas culturais tais como irrigações, capinas manuais e controle fitossanitário quando necessário.

### Extração e análises químicas dos óleos essenciais (OE)

No Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais, os OEs foram extraídos e analisados por cromatografia a gás (CG) acoplada a espectrometria de massas (EM) e detector de ionização em chama (DIC), de acordo com o método descrito por Ribeiro et al. (2015). As extrações foram feitas por hidrodestilação, em aparelho do tipo Clevenger, utilizando-se folhas frescas previamente maceradas e pesadas. Após 3 horas de extração, os óleos obtidos foram recolhidos em tubos de ensaio, centrifugados e tratados com sulfato de sódio anidro.

A análise por CG-EM foi desenvolvida em um instrumento Varian (Varian, modelo 450-GC/240-MS, Palo Alto, EUA) com ionização por elétrons a 70 eV, munido de coluna de polidimetilsiloxano VF-5MS (30 m x 0,25 mm x 1,0  $\mu\text{m}$ ). Alíquotas de 1  $\mu\text{L}$  de amostra (OE diluído em hexano 1:100) foram injetadas a 250 °C, no modo de injeção com divisão de fluxo de 1:30, durante toda a corrida (30,3 min). Hélio foi utilizado como gás carreador (fluxo de 1,50 mL min<sup>-1</sup>). As temperaturas da linha de transferência e do detector foram fixadas em 250 °C e 200 °C, respectivamente. A separação cromatográfica foi conduzida na seguinte programação térmica: temperatura inicial de 70 °C com rampa de aquecimento de 4 °C min<sup>-1</sup> até 180 °C por 27,5 min, seguida por rampa de aquecimento de 25 °C min<sup>-1</sup> até 250 °C, ao término da corrida. Os espectros de massas foram adquiridos na faixa de m/z 25-500. A identificação dos compostos foi realizada pela comparação dos espectros de massas e índices de retenção obtidos por injeção de uma mistura de uma série homóloga de alcanos C7-C22 com dados da literatura (ADAMS, 2009; NIST, 2013).

A análise por CG-DIC foi realizada em um instrumento Shimadzu (Shimadzu, modelo GC-2010 Plus, Quioto, Japão) equipado com uma coluna de polidimetilsiloxano RTX-5 (30 m x 0,25 mm x 1,0  $\mu\text{m}$ ) empregando-se as mesmas condições cromatográficas utilizadas na CG-EM, exceto pelo uso de nitrogênio como gás carreador. A contribuição de cada composto volátil na mistura foi dada pela área relativa (%) do seu respectivo pico no cromatograma registrado por DIC.

## Microrganismos

O estudo foi realizado com cepas de referências (Microbiologics, Sant Cloud, EUA) de bactérias Gram negativas (*Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella* Enteritidis ATCC 10708), Gram positivas (*Listeria monocytogenes* ATCC 33090, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P) e levedura (*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763), além de fungos filamentosos (*Aspergillus niger* e *Penicillium* spp.). Esses fungos foram isolados de queijo de coalho, e identificados no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Agroindústria Tropical. O cultivo de bactérias foi realizado em caldo infuso de cérebro e coração (Becton Dickinson,

USA), enquanto levedura e fungos filamentosos foram cultivados em caldo batata dextrose (Becton Dickinson, EUA). Após o crescimento, as cepas de bactérias e levedura foram adicionadas de 20% de glicerol (v/v) e estocadas sob congelamento (-20 °C e -80 °C) e refrigeração (4 °C a 6 °C). Os fungos foram estocados apenas sob refrigeração.

### **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais**

O efeito antimicrobiano dos OE foi avaliado pelo método de difusão em ágar de acordo com a norma de Desempenho para Testes de Sensibilidade Antimicrobiana, recomendada pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2005). As bactérias foram crescidas em caldo infuso de cérebro e coração (BHI) a 35 °C por 24 horas. Levedura e fungos filamentosos foram cultivados em caldo batata dextrose (Becton Dickinson, EUA) a 25 °C por 48-72 horas. As culturas de bactérias ( $10^8$  células/mL) foram semeadas na superfície de ágar Mueller-Hinton (Becton Dickinson, EUA), mas levedura e suspensão de fungos filamentosos ( $10^5$  esporos/mL) foram inoculados em ágar batata dextrose (Becton Dickinson, EUA), com auxílio de um swab. Após a inoculação, o ágar foi perfurado para obter poços de 5 mm de diâmetro, aos quais foram adicionados 25  $\mu$ L das diferentes concentrações (0,78%, 1,56%, 3,12%, 6,25%, 12,50%, 25%, 50% e 100%) de cada óleo, obtidas por diluição binária em Tween 80 a 1% (Vetec®, Rio de Janeiro, Brasil). O diâmetro dos halos de inibição (mm) foi determinado após incubação a 35 °C por 24 horas, para bactérias, e 25 °C por 48-72 horas para levedura e fungos filamentosos. Estabeleceu-se que as concentrações de óleos que apresentaram halos com diâmetros iguais ou superiores a 8 mm indicavam atividade antimicrobiana. Como controle positivo, foram utilizadas soluções de amicacina (250 mg/mL, Laboratório Teuto, BR) para bactérias e nistatina (100.000 UI/mL, Laboratório Teuto, BR) para levedura e fungos filamentosos. Solução estéril de Tween 80 a 1% (Vetec®, Rio de Janeiro, Brasil) foi utilizada como controle negativo.

### **Delineamento experimental e análise estatística**

A pesquisa foi baseada num experimento fatorial inteiramente casualizado com 3 repetições e 3 fatores de tratamentos. Os

tratamentos foram constituídos de 4 OE, 8 concentrações de cada um deles e 7 microrganismos descritos anteriormente. A análise estatística consistiu da análise de variância dos efeitos principais (óleos, microrganismos, concentrações e suas respectivas interações); da comparação das médias dos tratamentos constituídos pelos óleos e pelos microrganismos e de análise de regressão das concentrações dos óleos. As médias dos tratamentos (óleos e microrganismos) foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As concentrações reais dos óleos que inibem o crescimento dos microrganismos e os respectivos tamanhos dos halos no ponto de eficácia da inibição foram estimados pela análise de regressão.

### **Elaboração de filmes incorporados de óleos essenciais**

Os filmes foram elaborados pelo método casting (SANTIAGO-SILVA et al. 2009), com algumas modificações, tais como o espalhamento da solução filmogênica com barra de ferro de espessura conhecida e secagem do filme à temperatura ambiente. Para a produção dos filmes, foram usados acetato de celulose (Rhodia, São Paulo, Brasil) e acetona (Vetec®, Rio de Janeiro, Brasil). O acetato de celulose foi dissolvido na acetona na proporção 1:2 (p/v), obtendo as soluções filmogênicas. A incorporação dos óleos de capim-limão, alecrim-pimenta e alfavaca-cravo às soluções em concentrações de 10% e 20% (v/v) foi realizada conforme metodologia descrita por Bastos et al. (2013). Filme elaborado sem adição de OE foi utilizado como controle.

### **Atividade antimicrobiana de filmes**

Para avaliação qualitativa da bioatividade dos três filmes elaborados, discos de 1,5 cm de diâmetro foram colocados sobre a superfície de ágar Mueller-Hinton (bactérias) e ágar batata dextrose (levedura e fungos filamentosos) inoculados<sup>6</sup> com suspensões de células ( $1$  a  $2 \times 10^6$  UFC/mL) de *Salmonella* Enteritidis, *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. cerevisiae*, *A. niger*. e *Penicillium* spp. As placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas e 25 °C por 48-72 horas, para bactérias, levedura e fungos filamentosos, respectivamente. A atividade antimicrobiana foi verificada pela inibição de crescimento microbiano sob o disco dos filmes. Como controle positivo, foi utilizado antibiótico amicacina (250 mg/mL,

Laboratório Teuto, BR), para bactérias, e nistatina (100.000 UI/mL, Laboratório Teuto, BR), para levedura e fungos filamentosos. Filme sem adição de óleo foi utilizado como controle negativo.

## Resultados e Discussão

### Composição química dos óleos essenciais

A composição química dos óleos essenciais variou em função das quatro espécies de plantas aromáticas, e os resultados podem ser observados na Tabela 1. As análises de CG-EM e CG-DIC permitiram identificar 17 compostos no óleo de alfavaca-cravo, os quais constituíram 96,53% da mistura volátil, sendo o eugenol (62%) e eucaliptol (16%) seus principais componentes.

**Tabela 1.** Composição química de OE extraídos de folhas e inflorescências de quatro espécies de plantas aromáticas determinada por CG-EM e CG-DIC.

Componente	Índice de retenção linear	Alfavaca-cravo (%)	Capim-limão (%)	Alecrim-pimenta (%)	Elixir-paregórico (%)
$\alpha$ -tujeno	933	-	-	0,64	-
$\alpha$ -pineno	942	-	-	0,30	-
Sabineno	980	-	-	0,23	0,17
$\beta$ -pineno	984	0,59	-	0,10	-
$\beta$ -mirceno	993	0,67	8,01	1,13	-
$\delta$ -3-careno	1015	1,68	-	0,09	-
$\alpha$ -terpineno	1022	-	-	0,66	-
p-cimeno	1030	0,52	-	6,70	-
Limoneno	1035	0,38	-	0,41	0,18
Eucaliptol	1037	15,97	-	0,72	0,60
(E)- $\beta$ -ocimeno	1053	-	-	0,10	-
$\gamma$ -terpineno	1062	-	-	1,76	-
Hidrato de sabineno	1070	3,94	-	-	-
4-thujanol	1072	-	-	0,18	-
Fenchona	1089	0,32	-	-	-
Linalol	1101	0,09	0,23	0,08	-
endo-Fenchol	1120	-	0,76	-	-
Ipsidienol	1149	-	-	0,29	-
Pinocarvona	1169	-	0,21	-	-
Umbellulona	1176	-	0,11	-	-
Terpinen-4-ol	1181	-	-	0,89	-
$\alpha$ -terpineol	1193	0,18	0,64	0,14	-

(Continua...)

**Tabela 1.** Continuação.

Componente	Índice de retenção linear	Alfavaca-cravo (%)	Capim-limão (%)	Alecrim-pimenta (%)	Elixir-paregórico (%)
Metil-chavicol	1200	-	-	-	90,40
Verbenona	1206	-	1,16	-	-
Éter metil-timol	1239	-	-	0,84	-
Neral	1242	-	33,30	-	-
Geraniol	1256	-	2,47	-	-
Geranial	1271	-	48,69	-	-
Timol	1295	-	-	75,07	-
Carvacrol	1302	-	-	0,19	-
$\alpha$ -cubebeno	1353	-	0,31	-	-
Eugenol	1363	61,96	-	-	-
Acetato de Nerila	1365	-	0,69	-	-
$\alpha$ -copaeno	1381	-	-	-	0,32
Acetato de geranila	1386	-	1,35	-	-
$\beta$ -elemeno	1394	-	-	-	0,14
Cipereno	1399	-	0,91	-	-
Metil-eugenol	1403	-	-	-	0,39
Isocariofileno	1409	-	0,24	-	-
$\beta$ -cariofileno	1422	0,43	-	5,14	2,55
$\alpha$ -trans-bergamoteno	1440	-	-	-	0,13
Aromadendreno	1445	-	-	0,28	-
$\alpha$ -humuleno	1452	3,29	-	0,26	0,11
Germacreno D	1483	-	-	0,48	1,78
$\beta$ -selineno	1493	0,50	-	-	-
$\alpha$ -selineno	1502	1,50	-	-	-
Biciclogermacreno	1505	-	-	0,59	1,96
$\gamma$ -cadineno	1519	4,39	-	-	-
Epi- $\alpha$ -selineno	1524	0,12	-	-	-
$\delta$ -cadineno	1526	-	-	0,09	0,16
Espatuleno	1584	-	-	-	0,14
Viridiflorol	1595	-	-	0,91	-
Óxido de cariofileno	1613	-	-	0,18	-
Total de compostos identificados (%)		96,53	99,08	98,45	98,92

Os 16 compostos identificados no OE de capim-limão foram equivalentes a 99,08% da composição do óleo, sendo o citral (33% de neral e 49% de geranial) o seu constituinte majoritário. O óleo de alecrim-pimenta foi constituído por 28 compostos, correspondendo a 98,45% do total da mistura volátil, com predominância de timol (75%). O óleo de elixir-paregórico apresentou uma composição rica em metil-chavicol (90,4%), contendo 14 compostos identificados (98,92%

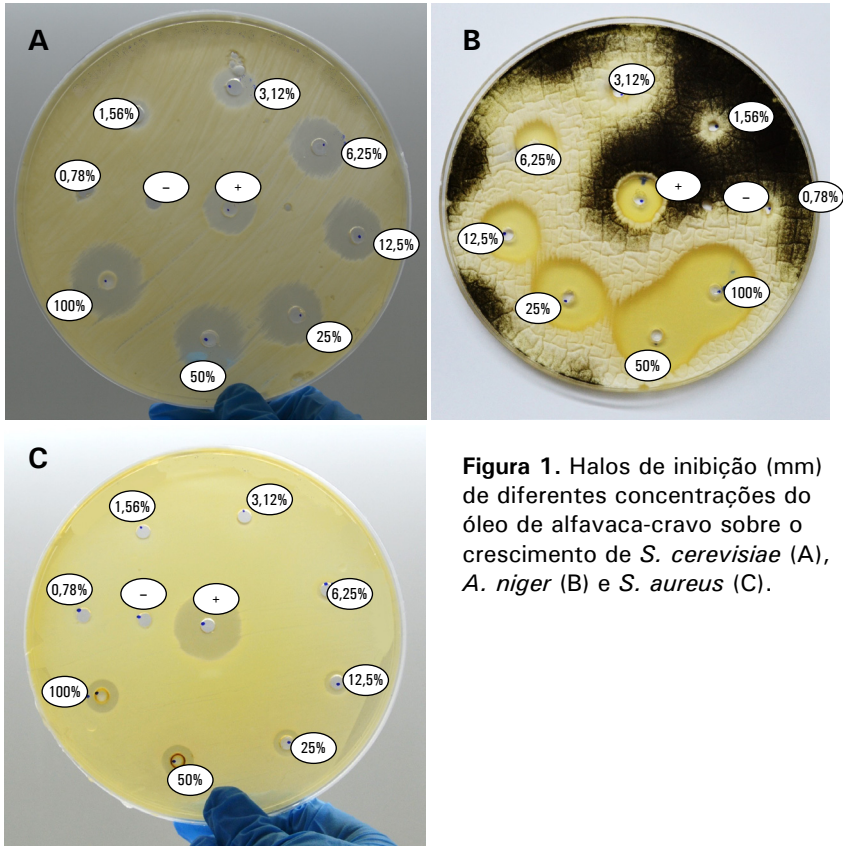
da mistura volátil total). Elevadas concentrações desses compostos bioativos também têm sido relatadas em estudos anteriores (MORAES et al., 2002; SACCHETTI et al., 2005; BARBOSA et al., 2008; VERAS et al., 2012). O alto teor de metil-chavicol (90,4%) detectado no óleo de elixir-paregórico inviabilizou sua utilização em filmes para embalagem de alimentos, pois estudos de toxicidade in vitro demonstraram sua ação tóxica para *Artemia salina* (SILVA et al., 2010), além de seus efeitos genotóxicos e carcinogênicos (VINCENZI et al., 2000).

### **Atividade antimicrobiana de óleos essenciais**

O potencial antimicrobiano dos óleos variou em função da concentração, da espécie de planta e do microrganismo. No entanto, observou-se que os halos de inibição formados nas concentrações 100% e 50% apresentaram tamanhos similares, indicando uma menor difusão do óleo puro no ágar (Figura 1). As diluições subsequentes apresentaram formação de halos proporcionais às concentrações.

Os valores médios dos halos (mm) nas diferentes concentrações utilizadas (0,78%; 1,56%; 3,12%; 6,25%; 12,50%; 25%; 50% e 100%) de cada óleo são apresentados na Tabela 2. Em geral, os óleos apresentaram maior efeito inibitório sobre o desenvolvimento de levedura, seguida de fungos filamentosos, bactérias Gram positivas e Gram negativas. O óleo de alfavaca-cravo destacou-se como o mais efetivo na inibição do crescimento microbiano para a maioria dos microrganismos testados. O efeito foi seguido dos óleos de capim-limão e alecrim-pimenta. Entretanto, o óleo de capim-limão apresentou-se significativamente mais efetivo que o de alfavaca-cravo e o de alecrim-pimenta, na inibição de *L. monocytogenes*. O óleo de elixir-paregórico, por sua vez, demonstrou baixa atividade antimicrobiana, diferindo significativamente dos demais ao nível de  $p < 0,05$  de probabilidade, pelo teste de Tukey. Os OEs demonstraram baixo potencial antimicrobiano sobre o desenvolvimento de *E. coli* e *Salmonella* Enteritidis. A baixa susceptibilidade dessas bactérias pode ser atribuída aos lipopolissacarídeos da membrana externa que envolve as células desses microrganismos, os quais restringem a passagem de compostos com característica hidrofóbica (BURT, 2004).





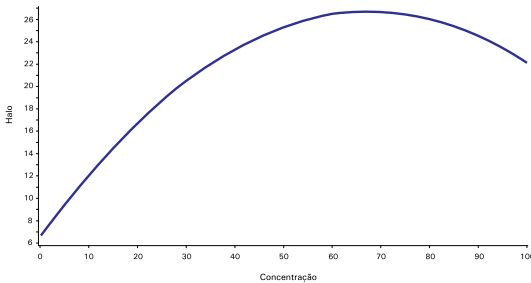
**Figura 1.** Halos de inibição (mm) de diferentes concentrações do óleo de alfavaca-cravo sobre o crescimento de *S. cerevisiae* (A), *A. niger* (B) e *S. aureus* (C).

**Tabela 2.** Valores médios dos halos de inibição do crescimento microbiano nas diferentes concentrações de óleos essenciais.

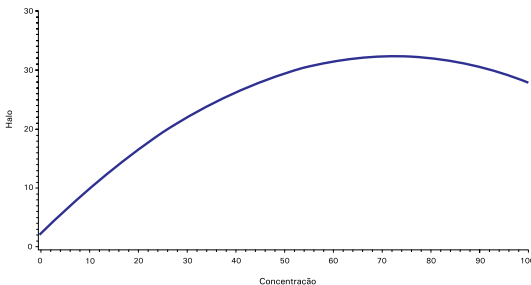
Microrganismo	Óleos essenciais/halos (mm)			
	Capim-limão*	Alecrim-pimenta*	Alfavaca-cravo*	Elixir-pargórico*
<i>S. cerevisiae</i>	13,94 ab A	13,58 a A	14,17 a A	3,81 ab B
<i>A. niger</i>	10,46 ab A	12,96 a A	13,13 a A	0,00 c B
<i>Penicillium</i>	13,96 ab A	10,21 a A	11,63 a A	0,00 c B
<i>L. monocytogenes</i>	15,33 a A	7,41 a B	4,46 b BC	1,44 bc C
<i>S. aureus</i>	12,02 ab A	7,71 a B	11,54 a A	7,04 a B
<i>E. coli</i>	7,88 b A	7,90 a A	9,60 ab A	3,54 ab B
<i>Salmonella</i> Enteritidis	0,00 c B	8,67 a A	9,30 ab A	1,19 bc B

\*Médias seguidas por letras minúsculas diferentes, na vertical e de maiúsculas na horizontal diferem significativamente entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A partir da concentração de 6,25%, o óleo de alfavaca-cravo apresentou amplo espectro de inibição antimicrobiana sobre *S. cerevisiae* (14,67 mm), *A. niger* (11,00 mm), *S. aureus* (10,67 mm), *E. coli* (10,17 mm), *Salmonella* Enteritidis (10,00 mm), *Penicillium* (6,67 mm), exceto *L. monocytogenes*. O crescimento de *L. monocytogenes* foi inibido a partir da concentração de 50%, evidenciando a resistência dessa cepa ao referido óleo. Para *S. cerevisiae*, *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella* Enteritidis, foi observada também formação de halos superiores a 8 mm a partir da concentração de 3,12%. Vale destacar a potente atividade sobre as cepas de *S. cerevisiae*, cujo ponto de inibição máxima ocorreu com a concentração de 67,57% e halo de 26,68 mm (Figura 2). A atividade antifúngica desse óleo para cepa de *A. niger* ocorreu a partir da concentração de 6,25%, com halo a partir de 11,41 mm, cujo ponto de inibição máxima ocorreu com a concentração de 73,00% e halo de 32,26 mm (Figura 3). Estudos sobre a composição química e atividade antimicrobiana do óleo de alfavaca-cravo demonstraram que a inibição do crescimento de *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* foi atribuída, principalmente, à presença de eugenol (58%), seu principal componente bioativo (LEMOS et al., 2005; FRANCO et al., 2007; SILVA et al., 2010).

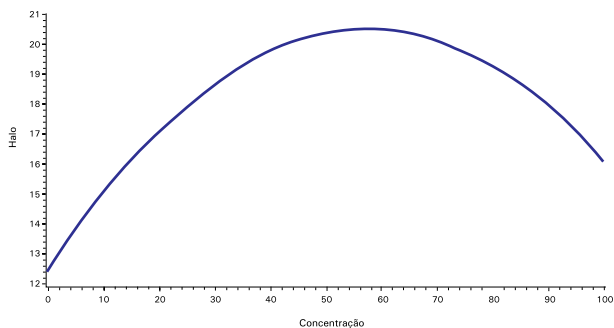


**Figura 2.** Estimativa da concentração (%) do óleo de alfavaca-cravo e do tamanho do halo (mm) de inibição no crescimento de *S. cerevisiae*.



**Figura 3.** Estimativa da concentração (%) do óleo de alfavaca-cravo e do tamanho do halo (mm) de inibição no crescimento de *A. niger*.

O óleo de capim-limão, a partir da concentração de 12,5%, foi efetivo na inibição do crescimento de *Penicillium* (17,00 mm), *S. cerevisiae* (15,17 mm), *A. niger* (13,67 mm), *L. monocytogenes* (11,70 mm), *S. aureus* (10,50 mm), *E. coli* (8,17 mm), exceto *Salmonella* Enteritidis, que não demonstrou susceptibilidade ao óleo. Constatou-se potente atividade inibitória sobre levedura e fungos. Em todas as concentrações avaliadas, esse óleo destacou-se entre os demais na inibição do desenvolvimento de *L. monocytogenes*, com formação de halos entre 13,33 mm e 21,83 mm (Figura 4). O ponto máximo de inibição estimado para *L. monocytogenes* ocorreu na concentração de 57,33% e halo de 20,50 mm (Tabela 3). Esse resultado é interessante, pois possibilita a elaboração de filme antimicrobiano para alimentos, o qual poderá ser utilizado no controle da contaminação por *L. monocytogenes*, bactéria de alta patogenicidade que representa um perigo à saúde pública. O elevado potencial antimicrobiano apresentado pelo óleo de capim-limão pode ser atribuído à alta concentração de citral (82%) detectada na sua composição. Em outro estudo in vitro com óleo de capim-limão, também foi constatada potente ação inibitória sobre *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. faecalis* (BASSOLÉ et al., 2011). Sacchetti et al. (2005) constatou potente inibição desse óleo sobre leveduras deterioradoras de alimentos. Esse OE é considerado seguro para a saúde (Substances generally recognized as safe) conforme o Código Federal de Regulamentação da Food Drug Administration (FDA, 2014).



**Figura 4.** Estimativa da concentração (%) do óleo de capim-limão e do tamanho do halo (mm) de inibição no crescimento de *L. monocytogenes*.

O óleo de alecrim-pimenta, a partir da concentração de 12,5%, foi efetivo na inibição do crescimento de *S. cerevisiae* (13,67 mm), *A. niger* (12,33 mm), *E. coli* (9,83 mm), *S. aureus* (9,77 mm), *Salmonella* Enteritidis (9,33 mm), exceto *L. monocytogenes* e *Penicillium*, pois apresentaram halo de inibição inferior a 8 mm. O óleo também demonstrou potente atividade inibitória sobre o desenvolvimento de *S. cerevisiae* com formação de halo de 9,00 mm a partir da concentração 3,12% e *Salmonella* Enteritidis com halos de 9,17 mm a partir da concentração de 6,25%. A ação inibitória desse óleo também foi constatada sobre cepas de *S. aureus* e *E. coli* isoladas de queijo minas artesanal (CASTRO et al., 2011). Da mesma forma, Veras et al. (2012) observaram maior sensibilidade de cepas Gram positivas (*S. aureus*) em relação a Gram negativas (*P. aeruginosa*).

A estimativa da concentração (%) dos óleos e tamanho de halos (mm) para inibição máxima do crescimento microbiano são apresentados na Tabela 3. O óleo de capim-limão demonstrou ponto de inibição máxima para *L. monocytogenes* na concentração 57,33% com halo de 20,50 mm, destacando-se entre os demais óleos. Para *A. niger*, o óleo de alecrim-pimenta indicou o ponto máximo na concentração de 74,41% com halo de 36,28 mm, enquanto, para o óleo de alfavaca-cravo, esse ponto foi similar, com concentração 73,00% e halo 32,27 mm.

**Tabela 3.** Estimativa das concentrações (%) dos óleos essenciais e tamanho de halo (mm) para inibição máxima do crescimento microbiano.

Microrganismo	Óleos essenciais							
	Capim-limão		Alecrim-pimenta		Alfavaca-cravo		Elixir-paregórico	
	Conc.	Halo	Conc.	Halo	Conc.	Halo	Conc.	Halo
<i>S. cerevisiae</i>	75,19	29,42	82,40	28,48	67,57	26,69	201,29	22,22
<i>A. niger</i>	70,79	26,14	74,71	36,28	73,00	32,27	50,39	0,00*
<i>Penicillium</i>	68,08	37,27	81,79	31,27	70,60	30,73	50,39	0,00*
<i>Salmonella</i> Enteritidis	50,39	0,00*	74,00,	14,86	66,95	14,76	23,39	-0,60
<i>E. coli</i>	74,83	13,22	70,85	16,25	74,59	15,22	86,74	11,98
<i>S. aureus</i>	81,73	18,75	71,27	19,35	80,18	16,46	62,25	15,77
<i>L. monocytogenes</i>	57,33	20,50	65,76	23,34	70,30	12,85	23,39	-0,72

\* Ponto estacionário está em um achatamento. Conc. = concentração.

## Atividade antimicrobiana de filmes incorporados com OE

Os resultados da avaliação qualitativa da ação antimicrobiana dos filmes incorporados com 10% e 20% dos óleos de capim-limão, alecrim-pimenta e alfavaca-cravo sobre o crescimento dos microrganismos testados podem ser observados na Tabela 4. Esses óleos foram selecionados devido à sua ação inibitória sobre o crescimento microbiano, a qual proporcionou formação de halos superiores a 8 mm a partir da concentração de 6,25%, bem como a interação deles com a solução filmogênica. Com base nesses resultados, as concentrações de 10% e 20% desses óleos foram selecionadas para elaboração dos filmes de acetato de celulose. Bastos et al. (2015) observaram que filmes incorporados com os óleos de capim-limão, alecrim-pimenta e alfavaca-cravo promoveu o aumento da barreira ao vapor de água e a flexibilidade, porém reduziu a transparência dos filmes, sugerindo sua utilização na embalagem de alimentos que são sensíveis à luz e aos que requerem altas trocas de vapor de água.

**Tabela 4.** Atividade antimicrobiana de filmes incorporados com OE sobre crescimento de diferentes microrganismos.

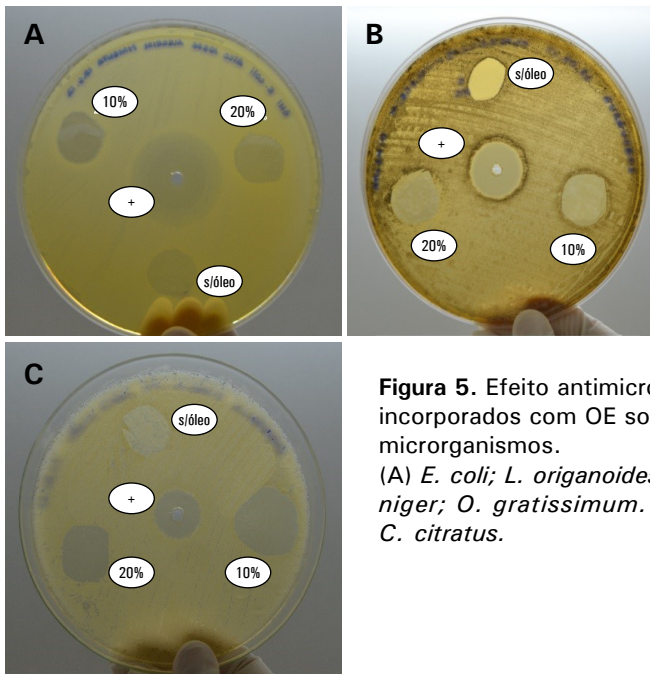
Microrganismo/óleo	Capim-limão		Alecrim-pimenta		Alfavaca-cravo	
	10%	20%	10%	20%	10%	20%
<i>S. cerevisiae</i>	+	+	+	+	+	+
<i>A. niger</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Penicillium</i>	+	+	+	+	+	+
<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>L. monocytogenes</i>	+	+	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	+	+
<i>Salmonella</i> Enteritidis	-	-	-	-	+	+

+ Presença de crescimento microbiano.

- Ausência de crescimento microbiano.

A ação antimicrobiana dos filmes seguiu a mesma tendência dos testes realizados com óleos livres. Os filmes incorporados com os óleos de capim-limão, alecrim-pimenta e alfavaca-cravo inibiram o crescimento microbiano somente na superfície de contato com o meio de cultura. Possivelmente, esse resultado foi devido à interação do óleo com a

matriz do filme, não permitindo sua difusão no ágar em torno do disco. Os filmes apresentaram inibição sobre o crescimento de levedura, fungos filamentosos e *S. aureus*. Apenas o filme de alfavaca-cravo foi eficiente no controle das bactérias Gram negativas, *E. coli* e *Salmonella* Enteritidis, enquanto o filme incorporado com óleo de capim-limão foi efetivo na inibição do desenvolvimento de *L. monocytogenes*. Esses resultados são de grande importância, pois possibilitam a obtenção de filmes antimicrobianos para embalagem de alimentos visando à prevenção da contaminação do produto por esses patógenos. O filme sem adição dos óleos não afetou o desenvolvimento microbiano, conforme já era previsto, sendo observado crescimento sobre a superfície de contato com o filme (Figura 5). Imran et al. (2010) avaliaram um filme antimicrobiano à base de derivado de celulose adicionado de glicerol e nistatina e, também, verificaram inibição do crescimento microbiano apenas na superfície de contato com o filme, sem verificar a migração dos compostos ativos em torno dos discos.



**Figura 5.** Efeito antimicrobiano de filmes incorporados com OE sobre o crescimento de microrganismos.

(A) *E. coli*; *L. origanoides*. (B) *Aspergillus niger*; *O. gratissimum*. (C) *S. cerevisiae*; *C. citratus*.

A incorporação dos óleos de capim-limão, alecrim-pimenta e alfavaca cravo em filmes de acetato de celulose proporcionou a obtenção de um biopolímero com propriedades físicas, mecânicas, barreiras ao vapor de água (BASTOS et al., 2013) e antimicrobiana satisfatórias, indicando seu potencial como embalagem ativa visando ampliar a vida de prateleira dos alimentos.

## Conclusões

Os óleos essenciais apresentam atividade antimicrobiana a partir da concentração de 6,25% para a maioria dos microrganismos, exceto o óleo de elixir-paregórico, que demonstra baixo efeito antimicrobiano. Os óleos de alfavaca-cravo, capim-limão e alecrim-pimenta são mais efetivos na inibição do crescimento de *S. cerevisiae*, *A. niger* e *Penicillium*. Os óleos de alfavaca-cravo e alecrim-pimenta apresentam potencial inibitório sobre o desenvolvimento de todos os microrganismos avaliados, exceto *L. monocytogenes*. O óleo de capim-limão destaca-se na inibição do crescimento das cepas Gram positivas, *L. monocytogenes* e *S. aureus*. A ação antimicrobiana dos filmes de acetato de celulose seguiu a mesma tendência dos testes realizados com óleos livres, mostrando-se efetivo com concentrações de óleo iguais ou superiores a 10%. Esse resultado indica o potencial desse biopolímero como embalagem ativa para alimentos.

# Referências

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectrometry**. 4. ed. Carol Stream: Allured, 2009.

BARBOSA, L. C. A.; PEREIRA, U. A.; MARTINAZZO, A. P.; MALTHA, C. R. A.; TEIXEIRA, R. R.; MELO, E. C. Evaluation of the chemical composition of Brazilian commercial *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf samples. **Molecules**, Basel, v. 13, n. 8, p. 1864-1874, 2008.

BASSOLÉ, I. H.; LAMIEN-MEDA, A.; BAYALA, B.; ILBOUDO, A. J.; FRANZ, C.; NOVAK, J.; NEBIÉ, R. C.; DICKO, M. H. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. **Phytomedicine**, Stuttgart, v. 18, n. 12, p. 1070-1074, 2011.

BASTOS, M. S. R.; LAURENTINO, L. S.; CANUTO, K. M.; MENDES, L. G.; MARTINS, C. M.; SILVA, S. M. F.; FURTADO, R. F.; KIM, S.; BISWAS, A.; CHENG, H. N. Physical and mechanical testing of essential oil-embedded cellulose ester films. **Polymer Testing**, London, v. 49, n. 2, p. 156-161, 2016. (DOI: 10.1016/j.polymertesting.2015.11.006).

BASTOS, M. S. R.; LAURENTINO, L. S.; SILVA, S. M. F.; MENDES, L. G.; CANUTO, K. M.; GONÇALVES, N. P.; PEREIRA, R. C. A. **Filme biodegradável de base celulósica incorporado de óleos essenciais**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. 4 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 207).

BOTRE, D. A.; SOARES, N. F. F.; ESPITIA, P. J. P.; SOUSA, S.; RENHE, I. R. T. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n. 3, p. 283-291, 2010.

BOUKHATEM, M. N.; KAMELI, A.; FERHAT, M. A.; SAIDI, F.; MEKARNIA, M. Rose



geranium essential oil as a source of new and safe anti-inflammatory drugs. **The Libyan Journal of Medicine**, Sweden, v. 8, p. 1-7, 2013.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 94, n. 3, p. 223-253, 2004.

CASTRO, C. E.; RIBEIRO, J. M.; DINIZ, T. T.; ALMEIDA, A. C.; FERREIRA, L. C.; MARTINS, E. R.; DUARTE, E. R. Antimicrobial activity of *Lippia sidoides Cham. (Verbenaceae)* essential oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. 3, p. 293-297, 2011.

CEYLAN, E.; FUNG, D. Y. C. Antimicrobial activity of spices. **Journal Rapid Methods Automation Microbiology**, Trumbull, v. 12, n. 1, p. 1-55, 2004.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Normas de desempenho para testes de sensibilidade antimicrobiana: 15º suplemento informativo**. Pennsylvania, 2005. (Document, M100-S15). Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicos/audite/manuais/clsi/clsi\\_OPASM100S15.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicos/audite/manuais/clsi/clsi_OPASM100S15.pdf)>. Acesso em: 03 jul. 2014.

DJABOU, N.; LORENZI, V.; GUINOISEAU, E.; ANDREANI, S.; GIULIANI, M. C.; DESJOBERT, J. M.; BOLLA, J. M.; COSTA, J.; BERTI, L.; LUCIANI, A.; MUSELLI, A. Phytochemical composition of Corsican Teucrium essential oils and antibacterial activity against food borne or toxi-infectious pathogens. **Food Control**, Oxford, v. 30, p. 354-363, 2013.

FDA - Food and Drug Administration. Substances generally recognized as safe (GRAS) - part 582. Essential oils, oleoresins (solvent-free), and natural extractives (including distillates) - sec. 582.20. **Code of Federal Regulations Title 21**, v. 6, 2014. Disponível em: <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm>>. Acesso em: 03 jul. 2014.

FRANCO, A. L. P.; OLIVEIRA, T. B.; FERRI, P. H.; BARA, M. T. F.; DE PAULA, J. R. Avaliação da composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook) Tronc. (ALFAZEMA), *Ocimum gratissimum* L. (ALFAVACA-CRAVO) e *Curcuma longa* L. (AÇAFRÃO). **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 4, n. 2, p. 208-220, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.polymertesting.2015.11.00>>. Acesso em: 02 jun. 2016.

GÓMEZ-ESTACA, J.; LÓPEZ DE LACEY, A.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; GÓMEZ-GUILLÉN, M. C.; MONTERO, P. Biodegradable gelatine-chitosan films incorporated with essential oil as antimicrobia agents for fish preservation. **Food Microbiology**, Amsterdam, v. 27, n. 7, p. 889-896, 2010.

HADDOUCHI, F.; CHAOUICHE, T. M.; ZAOUALI, Y.; KSOURI, R.; ATTOU, A.;

BENMANSOUR, A. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from four *Ruta* species growing in Algeria. **Food Chemistry**, Barking, v.141, p. 253-258, 2013.

IMRAN, M.; EI-FAHMY, S.; REVOL-JUNELLES, A.; DESOBRY, S. Cellulose derivate based active coating: Effects of nisin and plasticizer on physic-chemical and antimicrobial properties of hydroxypropyl methylcellulose films. **Carbohydrate Polymers**, London, v. 81, n. 2, p. 219-225, 2010.

LEMONS, J. A.; PASSOS, X. S.; FERNANDES, O. F. L.; PAULA, J. R.; FERRI, P. H.; SOUZA, L. K. H.; LEMOS, A. A.; SILVA, M. R. R. Antifungal activity from *Ocimum gratissimum* L. towards *Cryptococcus neoformans*. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, p. 55-58, 2005.

MATAN, N. Antimicrobial activity of edible film incorporated with essential oils to preserve dried fish (*Decapterus maruads*). **International Food Research Journal**, Shah Alam, v. 19, n. 4, p. 1733-1738, 2012.

MORAES, L. A. S.; FACANALI, R.; MARQUES, M. O. M.; MING, L. C.; MEIRELES, M. A. A. Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 74, p. 183-186, 2002.

NIST - National Institute of Standards and Technology. Chemistry Webbook. Disponível em: <<http://webbook.nist.gov/chemistry>>. Acesso em: 27 ago. 2013.

RAHMAN, A.; KANG, S. Inhibition of foodborne pathogens and spoiling bacteria by essential oil and extracts of *Erigeron ramosus* (walt.) B. S. P. **Journal of Food Safety, London**, v. 29, n. 2, p. 176-189, 2009.

RIBEIRO, F. W. M.; LAURENTINO, L. S.; ALVES, C. R.; BASTOS, M. S. R.; COSTA, J. M. C.; CANUTO, K. M.; FURTADO, R. F. Chemical modification of gum arabic and its application in the encapsulation of *Cymbopogon citratus* essential oil. **Journal of Applied Polymer Science**, New York, v. 132, n. 8, p. 415-419, 2015.

RUNYORO, D.; NGASSAPA, O.; VAGIONAS, K.; ALIGIANNIS, N.; GRAIKOU, K.; CHINO, I. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of four *Ocimum* species growing in Tanzania. **Food Chemistry**, Barking, v. 119, p. 311-316, 2010.

SACCHETTI, G.; MAIETTI, S.; MUZZOLI, M.; SCAGLIANTI, M.; MANFREDINI, S.; RADICE, M.; BRUNI, R. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chemistry**, Barking, v. 91, n. 4, p. 621-632, 2005.

SANTIAGO-SILVA, P.; SOARES, N. F. F.; NÓBREGA, J. E.; JÚNIOR, M. A. W.; BARBOSA, K. B. F.; VOLP, A. C. P.; ZERDAS, E. R. M. A.; WÜRLITZER, N. J.

Antimicrobial efficiency of film incorporated with pediocin (ALTA®2351) on preservation of sliced ham. **Food Control**, Oxford, v. 20, p. 85-89, 2009.

SILVA, L. L.; HELDWEIN, C. G.; REETZ, L. G. B.; HÖRNER, R.; MALLMANN, C. A.; HEINZMANN, B. M. Composição química, atividade antibacteriana in vitro e toxicidade em *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 20, n. 5, p. 700-705, 2010.

TIWARI, B. K.; VALDRAMIDIS, V. P.; O' DONNELL, C. P.; MUTHUKUMARAPPAN, K.; BOURKE, P.; CULLEN, P. J. Application of natural antimicrobials for food preservation: a review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 57, n. 14, p. 5987-6000, 2009.

VERAS, H. N.; RODRIGUES, F. F.; COLARES, A. V.; MENEZES, I. R.; COUTINHO, H. D.; BOTELHO, M. A.; COSTA, J. G. Synergistic antibiotic activity of volatile compounds from the essential oil of *Lippia sidoides* and thymol. **Fitoterapia**, Milano, v.83, n. 3, p 508-12, 2012.

VINCENZI, M.; SILANO, M.; MAIALETTI, F.; SCAZZOCCHIO, B. Constituents of aromatic plants: II. Estragole. **Fitoterapia**, Milano, v. 71, n. 6, p. 725-729, 2000.

ZINOVIADOU, K.G.; KOUTSOUMANIS, K.P.; BILIADERIS, C.G. Physico-chemical properties of whey protein isolate films containing oregano oil and their antimicrobial action against spoilage flora of fresh beef. **Meat Science**, Barking, v. 82, n. 3, p. 338-345, 2009.

**Embrapa**

---

*Agroindústria Tropical*



MINISTÉRIO DA  
**AGRICULTURA, PECUÁRIA  
E ABASTECIMENTO**

