

## POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIOXIDANTE DE ÓLEO ESSENCIAL DE FRUTOS DE PIMENTA ROSA (*Schinus terebinthifolius* Raddi)

Maiara Vargas Maciel<sup>1</sup>; Milena Ramos Vaz Fontes<sup>2</sup>; Camila Ramão Contessa<sup>3</sup>,  
Caroline Costa Moraes<sup>4</sup>, Elessandra da Rosa Zavareze<sup>5</sup>; Alvaro Renato Guerra  
Dias<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – [maiaravargasmaciel@gmail.com](mailto:maiaravargasmaciel@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – [milenarvf@gmail.com](mailto:milenarvf@gmail.com)

<sup>3</sup>Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) – [camilaramao@hotmail.com](mailto:camilaramao@hotmail.com)

<sup>4</sup>Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) – [caroline.moraes@unipampa.edu.br](mailto:caroline.moraes@unipampa.edu.br)

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – [elessandrad@yahoo.com.br](mailto:elessandrad@yahoo.com.br)

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – [alvaro.guerradias@gmail.com](mailto:alvaro.guerradias@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

O aumento pela procura de antimicrobianos e antioxidantes naturais para aplicação na indústria alimentícia tem crescido devido à preocupação em fornecer ao consumidor alimentos de qualidade e seguros. Doenças transmitidas por alimentos (DTAs) constituem uma síndrome caracterizada por diarreia, dor abdominal, febre, náuseas ou vômitos atribuídos à ingestão de água ou alimentos contaminados por bactérias, vírus, parasitas, toxinas ou produtos químicos. As manifestações clínicas dependem de cada patógeno e muitos deles produzem os mesmos sintomas, causando complexidade no diagnóstico clínico. No Brasil, os agentes etiológicos mais associados às DTA são os bacterianos, predominantemente as DTA causadas por *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Além das bactérias patogênicas, as bactérias deteriorantes, caso estejam presentes em alimentos armazenados sobretudo de forma inadequada, aceleram a oxidação lipídica, que é um processo que já ocorre naturalmente, responsável por uma série de alterações que levam à perda do valor nutricional, alteração das características sensoriais e formação de compostos tóxicos (AMARAL, SILVA e LANNES, 2018).

Óleos essenciais são alternativas para substituir os antioxidantes sintéticos e consequentemente proteger os produtos alimentares de contaminações microbianas, pois são naturais e provenientes de plantas aromáticas, podendo ser incorporados tanto diretamente ao alimento, quanto nas embalagens alimentares (DANNENBERG et al., 2019). Entretanto, óleos essenciais são instáveis e facilmente volatilizados, sendo necessário a aplicação de alguns procedimentos para preservar seus componentes (TUREK e STINTZING, 2013). *Schinus terebinthifolius* Raddi, conhecida no Brasil como Aroeira ou pimenta-rosa, é uma árvore de presença abundante no Rio Grande do Sul. Os extratos vegetais e óleos essenciais extraídos das suas folhas e frutos são conhecidos por sua atividade antimicrobiana principalmente frente a micro-organismos Gram-positivos associados à alimentos (LINDEN et al., 2020). Além disso, MACEDO et al. (2017) também ressaltam seu poder antioxidante, devido à presença de inúmeros compostos fenólicos como quercetina, mirceno e ácido elágico, juntamente à antocianinas e flavonóides.

Dessa forma, o presente estudo objetivou avaliar o potencial antimicrobiano e antioxidante de óleo essencial dos frutos da pimenta-rosa coletados na cidade de Capão do Leão/RS.

## 2. METODOLOGIA

As amostras de frutos utilizadas neste estudo foram coletadas de árvores adultas localizadas no campus da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) em Capão do Leão, RS, e foram botanicamente identificados como *Schinus terebinthifolius* Raddi tendo como base na semelhança com espécime nº 25.131 do herbário do Departamento de Botânica da UFPEL. Após a colheita, os frutos foram higienizados e debulhados para posterior estocagem em ultrafreezer até o momento da extração. Para obtenção do óleo essencial de pimenta rosa (OEPR), utilizou-se o método de hidrodestilação e em seguida, o óleo foi armazenado em frasco de vidro âmbar e mantido a - 80°C.

Os micro-organismos foram escolhidos com base na sua importância para a qualidade de alimentos. Utilizou-se cepas de *E. coli* ATCC 11230, *S. aureus* ATCC 12598, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 e *Salmonella enteritidis* ATCC 13076. A atividade antimicrobiana do OEPR foi inicialmente avaliada pela técnica de disco-difusão (CLSI, 2012b). Após, foi avaliada a concentração inibitória mínima (CIM), que é a menor concentração de OEPR necessária para inibir o crescimento dos micro-organismos testados mediante ausência de turvação visível, sendo determinada pela técnica de microdiluição em caldo (CLSI, 2012a). Em seguida, a concentração bactericida mínima (CBM) foi identificada através das placas onde não ocorreu crescimento bacteriano.

A atividade antioxidante do OEPR em diferentes concentrações foi avaliada utilizando dois métodos, primeiramente pelo radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), seguindo metodologia descrita por BRAND-WILLIAMS (1995) e pelo radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolona-6-sulfônico) (ABTS) (RE et al., 1999). A atividade anti radical foi medida como porcentagem de inibição de radicais livres, medindo-se diminuição na absorbância em comparação com o controle, conforme a Equação 1, onde  $A_{\text{Controle}}$  é a absorbância do controle e  $A_{\text{Amostra}}$  é a absorbância da amostra.

$$\text{Inibição (\%)} = \frac{A_{\text{Controle}} - A_{\text{Amostra}}}{A_{\text{Controle}}} * 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com nível de 5% de significância.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da atividade antimicrobiana do OEPR estão expostos na Tabela 1. Através do teste de disco-difusão, foi possível sugerir que a maior atividade antimicrobiana do OEPR foi indicada sobre a *L. monocytogenes*, já que visivelmente desenvolveu pouquíssimas colônias, circuladas na Figura 1. De acordo com a técnica descrita pela CLSI, o halo formado mostra a região na qual as bactérias não conseguem se desenvolver. Portanto, nota-se (Figura 1) que não houve formação do halo pelo fato da bactéria não ter crescido suficientemente, evidenciando o alto poder de inibição do óleo bruto ao adicionar 10 µL nos discos. Com isso, considerou-se como halo de inibição, todo o diâmetro da placa, ou seja, aproximadamente 90 mm. Além disso, a CIM e CBM encontradas foram de 37,9 e 101 mg/mL, respectivamente. O OEPR promoveu  $13,2 \pm 1,4$  mm de halo inibitório frente à *S. aureus*, apresentando CIM de 37,9 mg/mL e CBM de 50,6 mg/mL. Para a *S. enteritidis*, formou-se um halo de inibição de  $9,6 \pm 0,3$  mm, indicando valores de CIM de 63,3 e CBM de 113 mg/mL. Para *E. coli*, o OEPR não exibiu potencial de inibição.

Tabela 1. Atividade antimicrobiana do OEPR pelo método de disco-difusão de placas, concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Bactéria	Halo de inibição médio (mm)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<i>Listeria monocytogenes</i>	88,9 ± 0,6 <sup>a</sup>	37,9	101,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	13,2 ± 1,4 <sup>b</sup>	37,9	50,6
<i>Escherichia coli</i>	0,0 ± 0,0 <sup>d</sup>	-	-
<i>Salmonella enteritidis</i>	9,6 ± 0,3 <sup>c</sup>	63,3	113,0

Figura 1 – Teste antimicrobiano de disco-difusão frente a *Listeria monocytogenes*



Em estudo realizado por DOURADO (2012), a ação antimicrobiana de óleo essencial extraído de frutos verdes e maduros de pimenta rosa indicou halos de inibição de 15, 21 e 17 mm, com CIM de 2,73, 10,92 e 2,73 µg/mL e CBM de 5,46, 21,84 e 5,46 µg/mL para *L. monocytogenes* ATCC7644, *S. aureus* ATCC 23235 e *E. coli* ATCC11775. DANNENBERG et al. (2019) observaram inibição nula frente à *E. coli* e halos inibitórios de 24,3 e 23,1 mm, CIM de 0,68 e 1,36 mg/mL e CBM de 2,72 e 2,72 mg/mL, para *S. aureus* e *L. monocytogenes*, respectivamente. Já para *S. aureus*, o halo apresentado foi de 12,3 mm e CIM de 16 µg/mL. NAZZARO et al. (2013) reportaram uma menor eficiência dos óleos essenciais sobre bactérias Gram-negativas, devido, em parte, à maior complexidade da dupla parede celular destes micro-organismos em contraste com a estrutura simples da parede celular de bactérias Gram-positivas. As variações entre os diâmetros dos halos e valores de CIM e CBM encontrados neste estudo em comparação à literatura, provavelmente, estão relacionadas a cepa bacteriana utilizada, concentração de óleo testada para as bactérias, método de extração do óleo, além de variações sazonais como época da colheita dos frutos, temperatura, umidade e tipo de solo (LLORENS-MOLINA et al., 2020).

Tabela 2. Percentual de inibição do OEPR pelos métodos de DPPH e ABTS

Concentração (mg/mL)	Inibição (%) - DPPH	Inibição (%) - ABTS
10	67,3 ± 0,3 <sup>f</sup>	69,2 ± 1,2 <sup>e</sup>
20	68,4 ± 0,5 <sup>f</sup>	71,7 ± 0,7 <sup>de</sup>
30	68,1 ± 0,4 <sup>f</sup>	71,1 ± 0,8 <sup>de</sup>
40	70,9 ± 0,2 <sup>e</sup>	73,4 ± 0,8 <sup>cd</sup>
50	73,2 ± 0,5 <sup>d</sup>	73,9 ± 0,9 <sup>cd</sup>
60	75,7 ± 0,4 <sup>c</sup>	76,2 ± 1,0 <sup>c</sup>
80	81,5 ± 0,6 <sup>b</sup>	82,5 ± 0,7 <sup>b</sup>

100

85,1 ± 0,4<sup>a</sup>88,3 ± 2,1<sup>a</sup>

Quanto maior a concentração do OEPR, maior foi o percentual de inibição oxidativa (Tabela 2). A concentração entre 30 e 40 mg/mL engloba a CIM de *L. monocytogenes* e *S. aureus*, apresentando uma inibição em torno de 70% para DPPH e 72% para ABTS. MACEDO et al. (2017) reportaram que o óleo essencial de frutos de pimenta-rosa apresentaram atividade inibitória frente ao radical DPPH de no máximo 54,8%, observando que a ação foi dependente do tempo. Já para o ABTS, a maior inibição foi de 83%, com uma resposta dose-dependente entre as concentrações usadas.

#### 4. CONCLUSÕES

O OEPR teve potencial para inibição de *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *S. enteritidis*, além de exibir boa ação antioxidante. Assim, é uma alternativa para aplicações na área alimentar, podendo ser utilizado como conservante natural diretamente em alimentos ou aplicado em embalagens, com o objetivo de prolongar a vida útil dos produtos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, A. B., SILVA, M. V. D., & LANNES, S. C. D. S. Lipid oxidation in meat: mechanisms and protective factors—a review. **Food Science and Technology**, v. 38, p.1-15, 2018.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., & BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, n.1, p. 25-30, 1995.
- CLSI (2012a). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**; Approved standard (9th ed.) Vol. 32.
- CLSI (2012b). **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests**; Approved standard (11th ed.) Vol. 32.
- DANNENBERG, G. S., FUNCK, G. D., DA SILVA, W. P., & FIORENTINI, Â. M. Essential oil from pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action. **Food Control**, v. 95, p. 115-120, 2019.
- DOURADO, M. T. **Óleos essenciais e oleoresina da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi): propriedades químicas e biológicas**. 2012. 121 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Pelotas (UFPEL).
- LLORENS-MOLINA, J.A., VACAS, S., CASTELL, V., VERDEGUER, M. Seasonal variations of essential oils from five accessions of *Mentha longifolia* (L.) L. with selected chemical profiles. **Journal of Essential Oil Research**, p. 1-10, 2020.
- LINDEN, M., BRINCKMANN, C., FEUEREISEN, M. M., SCHIEBER, A. Effects of structural differences on the antibacterial activity of biflavonoids from fruits of the Brazilian peppertree (*Schinus terebinthifolius* Raddi). **Food Research International**, p. 109-134, 2020.
- MACEDO, N. B., PEREIRA, R. O., JUNIOR, E. V. B., MELO, J. O., SILVA, A. M. O. Perfil fitoquímico e *screening* antioxidante inicial do óleo essencial de frutos de *Schinus terebinthifolius* Raddi. In: **3º CONGRESSO INTERNACIONAL DE ATIVIDADE FÍSICA, NUTRIÇÃO E SAÚDE**. 2017.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE - (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância em saúde no Brasil 2003|2019: da criação da Secretaria de Vigilância em Saúde aos dias atuais**. Bol. Epidemiol., p. 1-154. 2019. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>.
- TUREK, C., & STINTZING, F. C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.12, n.1, p.40-53, 2013.
- NAZZARO, F., FRATIANNI, F., DE MARTINO, L., COPPOLA, R., & DE FEO, V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, v.6, n.12, p. 1451-1474, 2013.
- RE, R., PELLEGRINI, N., PROTEGGENTE, A., PANNALA, A., YANG, M., & RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9-10, p. 1231-1237, 1999.