

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Óleos Essenciais: Potencial como conservantes de alimentos

Daniela Segura Reis

Monografia orientada pela Professora Doutora Generosa Maria Manso
Teixeira Xavier, Professora Auxiliar

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2023

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Óleos Essenciais: Potencial como conservantes de alimentos

Daniela Segura Reis

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentado à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Generosa Maria Manso
Teixeira Xavier, Professora Auxiliar

2023

Resumo

Os Óleos Essenciais são compostos produzidos naturalmente por algumas plantas, originados do seu metabolismo secundário, podendo ser encontrados nas várias estruturas das mesmas. Na natureza têm algumas funções, como proteger as plantas contra microrganismos e insetos. São muito conhecidos pelas inúmeras propriedades que apresentam, sendo que neste trabalho se destacam as propriedades antimicrobianas, antifúngicas e antioxidantes. São extraídos das plantas por diferentes métodos e sua composição química é variável, apresentando dois grupos químicos principais: os terpenos e os compostos aromáticos ou fenilpropanóides.

Estes compostos têm um elevado interesse económico e são utilizados em diversas áreas como perfumaria, cosmética e indústria farmacêutica. Nos últimos anos, o interesse em utilizar Óleos Essenciais na indústria de alimentos, como alternativa aos conservantes sintéticos, tem vindo a crescer, de modo a possibilitar o aumento de vida dos produtos em virtude do sabor e aroma. Diante disso, a utilização de Óleos Essenciais como conservantes de alimentos é uma promissora escolha, apontando para novas abordagens, desafios e oportunidades.

Palavras-chave

Óleos essenciais; conservante natural; atividade antimicrobiana; atividade antifúngica; atividade antioxidante.

Abstract

Essential Oils are compounds produced naturally by some plants, originating from their secondary metabolism, and they can be found in their various structures. In nature, they have a several functions, such as protecting plants against microorganisms and insects. They are well known for their numerous properties, and in this work, we highlight the antimicrobial, antifungal and antioxidant properties. There are different methods for the extraction of Essential Oils from the plants where they are found, and their chemical composition varies, being classified into two main groups: terpenes and aromatic compounds or phenylpropanoids.

These compounds are of great economic interest and are used in various areas such as perfumery, cosmetics, and the pharmaceutical industry. In recent years, there has been growing interest in the usage of Essential Oils in the food industry as an alternative to synthetic preservatives, in order to increase the shelf life of products due to their taste and aroma. In view of this, the use of Essential Oils as food preservatives is a promising choice, pointing to new approaches, challenges and opportunities.

Keywords:

Essential Oils; natural preservative; antimicrobial activity; antifungal activity; antioxidant activity.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, aos pilares da minha vida, o meu pai, a minha mãe e a minha irmã. Sem eles, não teria chegado até aqui. Sou grata por todos os valores que me transmitiram e apoio incondicional que sempre recebi. São eles a minha força e a minha inspiração.

À Professora Doutora Generosa Teixeira, pela dedicação e disponibilidade que sempre demonstrou ao longo da execução deste trabalho. Agradeço a motivação que me transmitiu, fazendo-me acreditar que estava no bom caminho.

Às amigas que fiz na FFUL e que levo para a vida. Todas as partilhas e companheirismo tornaram este percurso mais fácil.

A todos os que de uma forma ou de outra, me motivaram e encorajaram ao longo deste segundo curso, em que trabalhei ao mesmo tempo. Obrigada por me fazerem acreditar em mim.

Abreviaturas

ABTS – Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)

ADN – Ácido desoxirribonucleico

ATP – Adenosina trifosfato

BHT – Butilhidroxitolueno

CMI – Concentração mínima inibitória

DMAPP – Difosfato de dimetilalilo

DPPH – 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

GPP – Geranil difosfato

GRAS – Generally Recognised as Safe

IPP – Difosfato de isopentenilo

LPS – Lipopolissacarídeos

OE – Óleo Essencial

UHT – Ultra High Temperature

Índice

Introdução.....	7
Metodologia	9
1. Métodos de extração dos Óleos Essenciais.....	10
1.1. Expressão.....	10
1.2. Destilação	10
1.2.1. Hidrodestilação	10
1.2.2. Destilação por arrastamento de vapor.....	11
1.3. Extração por solventes orgânicos	11
1.4. Outros métodos de extração	11
2. Composição química dos Óleos Essenciais	13
2.1. Terpenos	14
2.2. Compostos aromáticos.....	15
3. Mecanismos de ação dos Óleos Essenciais.....	17
3.1. Atividade antibacteriana	17
3.2. Atividade antifúngica	22
3.3. Atividade antioxidante.....	26
4. Aplicações.....	31
4.1. Produtos de padaria e pastelaria	32
4.2. Produtos lácteos	34
4.3. Carne.....	37
4.4. Peixe	40
4.5. Frutas e Vegetais	42
5. Perspetivas futuras e limitações	45
6. Conclusões	47
7. Referências Bibliográficas	48

Índice de Figuras

Figura 1. Estruturas químicas de alguns constituintes dos OE. De acordo com (19)	13
Figura 2. Biossíntese de terpenos através das diferentes vias. De acordo com (18).....	15
Figura 3. Síntese de fenilpropanóides pela via do ácido xiquímico. De acordo com (18).....	16
Figura 4. Mecanismos e locais de ação dos OE na atividade antibacteriana. De acordo com (26)	18
Figura 5. Estruturas químicas do carvacrol e do timol. De acordo com (28)	19
Figura 6. Mecanismos e locais de ação dos OE na atividade antifúngica. De acordo com (26)	23
Figura 7. Representação esquemática do nanoencapsulamento de OE e algumas vantagens. De acordo com (51).....	45

Índice de Tabelas

Tabela 1. Classificação dos terpenos em função de unidades de isopreno. Adaptado de (8) .	14
Tabela 2. Alguns OE e culturas bacterianas onde apresentam atividade. Adaptado de (3)	21
Tabela 3. Alguns OE com atividade antifúngica e respetivos fungos onde atuam. Adaptado de (3,13)	25
Tabela 4. OE com atividade antioxidante e seus principais constituintes. Adaptado de (3,28)	29
Tabela 5: Incorporação de OE no fabrico de produtos de padaria e pastelaria e microrganismos testados Adaptado de (37)	33
Tabela 6. Aplicação de OE como conservantes em produtos lácteos e respetivos microrganismos testados.	35
Tabela 7. Aplicação de OE como conservantes em produtos à base de carne e respetivos microrganismos testados.	38
Tabela 8. Aplicação de alguns compostos de OE como conservantes em produtos à base de peixe e respetivos alimentos e métodos de aplicação testados. Adaptado de (45).....	41
Tabela 9. Aplicação de OE como conservantes em frutas e vegetais e respetivos microrganismos testados.	43

Introdução

São cada vez maiores as exigências e preocupações por parte dos consumidores em relação à alimentação, havendo uma mudança comportamental no que diz respeito aos produtos industrializados, dando-se primazia a alimentos naturais e mais seguros para a saúde. Ao mesmo tempo, há uma maior consciencialização dos benefícios e potenciais aplicações das plantas medicinais e aromáticas. O interesse em usar conservantes naturais nos produtos alimentares tem aumentado nos últimos anos. Os Óleos Essenciais (OE) têm aqui o seu destaque, não só pelas suas propriedades, mas também por apresentarem uma vasta gama de atividades biológicas, baixo custo económico, disponibilidade e, também, de um modo geral, por serem seguros e possuírem efeitos adversos mínimos. (1,2)

Vários OE foram aprovados como aditivos alimentares e são considerados seguros (GRAS) pela Food and Drug Administration (FDA). Estes podem ser usados individualmente ou, em combinações de OE, permitindo um sinergismo das suas atividades biológicas e a redução das concentrações necessárias dos mesmos de modo a garantir a segurança alimentar. Usados nas proporções adequadas, não alteram o sabor e o aroma dos alimentos, permitindo o aumento do prazo de validade dos mesmos. (1,3)

Os OE são misturas complexas de compostos naturais voláteis, existentes em plantas aromáticas, sobretudo de climas temperados quentes, como o Mediterrânico e os tropicais. São metabolitos secundários odoríferos, com baixo peso molecular, solúveis em solventes orgânicos e gorduras, mas insolúveis em água. São geralmente extraídos por destilação por arrastamento de vapor ou por hidrodestilação, sendo líquidos à temperatura ambiente. (1,2,4,5)

Conhecidos pelo seu aroma, os OE são os responsáveis pelas fragrâncias que algumas plantas emitem e por algumas das suas propriedades farmacológicas. Podem ser encontrados em diferentes tipos de estruturas secretoras, localizadas em todos os órgãos das plantas, como raízes, rizomas, caules, folhas, flores, frutos e sementes. Na natureza estes compostos têm também a função de proteger as plantas contra vírus, bactérias, fungos, insetos e herbívoros. São também importantes na atração de agentes polinizadores e de agentes dispersores de sementes. (6)

Normalmente os OE estão presentes numa concentração inferior a 2%, representando uma pequena fração da planta. (4) A sua composição química pode variar muito, não só devido a fatores genéticos, mas também ambientais. (2) As suas propriedades são atribuídas não só a um

composto maioritário no OE, ou em extratos das plantas, mas ao sinergismo entre todos os compostos presentes. Por estas razões, de modo a que os OE apresentem uma composição química o mais homogénea possível, estes devem ser extraídos segundo condições idênticas, usando os mesmos órgãos vegetais, de plantas com a mesma origem geográfica e que tenham sido colhidas na mesma época do ano. (2,4,7,8)

As espécies produtoras de OE têm um elevado interesse económico nas indústrias de perfumaria, farmacêutica e alimentar, devido também a serem uma alternativa aos produtos químicos de síntese. Com o crescente recurso à utilização de produtos naturais, é importante regulamentar a sua obtenção para que mantenham qualidade, eficácia e segurança. Para garantir a boa qualidade dos OE, existem também publicações, para servirem como diretrizes, emitidas por várias entidades como a Organização Mundial de Saúde. (9)

Como se sabe, os OE são utilizados nas mais diversas áreas, desde a perfumaria, cosmética, indústria farmacêutica (atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante e analgésica), alimentar, fitossanitária (ex. repelentes de insetos e detergentes) e até fins ornamentais.

O tema a ser desenvolvido neste trabalho tem como objetivo focar as potenciais aplicações dos OE na área alimentar, dando destaque às suas atividades antimicrobianas, antifúngicas e antioxidantes.

Metodologia

Na elaboração deste trabalho foi efetuada uma revisão de literatura que visa elucidar o potencial dos OE como alternativa natural para a conservação de alimentos. Tendo como fundamentação teórica livros, artigos e publicações de cunho científico, a pesquisa incidiu em plataformas digitais nacionais e internacionais, em língua portuguesa ou estrangeira, como Google Scholar, Scielo, ScienceDirect, PubMed, entre outras.

Submeteram-se as seguintes palavras-chave: essential oils; essential oils chemical composition; essential oils extraction methods; antimicrobial activity; antioxidant activity; antifungal activity; essential oils in food preservation.

A pesquisa decorreu entre abril de 2023 e outubro de 2023 e deu-se relevância à informação mais recente, sendo que os artigos selecionados foram maioritariamente publicados após o ano 2000.

1. Métodos de extração dos Óleos Essenciais

Para que o OE possa ser utilizado ou analisado, este tem de ser extraído da estrutura vegetal onde se encontra armazenado. Os métodos utilizados para tal, são a destilação (hidrodestilação ou destilação por arrastamento de vapor), a expressão, a extração por solventes orgânicos e outros. A composição do OE pode variar consoante o método de extração utilizado. (10–12)

1.1. Expressão

A expressão, também conhecida por prensagem, é o método de extração utilizado exclusivamente na obtenção de OE da casca de frutos do género *Citrus* (bergamota, laranja, limoeiro, entre outros). É uma técnica que não envolve calor, o que justifica a aplicação nestes frutos, que contêm aldeídos na sua composição e são compostos termicamente instáveis. É um processo físico em que o fruto é prensado, provocando a quebra das glândulas onde o óleo se encontra e conseqüentemente, a sua saída. É assim obtida uma emulsão que é posteriormente centrifugada para a separação do OE. (4,11–13)

1.2. Destilação

A destilação é o método de extração mais tradicional e mais simples na obtenção de OE. A presença ou ausência de água em contato com a estrutura vegetal onde se encontra o OE, é a principal diferença entre a hidrodestilação e a destilação por arrastamento de vapor. (7)

1.2.1. Hidrodestilação

Na hidrodestilação, o material vegetal é imerso diretamente na água e este conjunto é levado à ebulição através de uma fonte de calor. O vapor provoca a abertura das paredes celulares, levando à evaporação do óleo que se encontra nas células da planta. Este vapor, então constituído pela mistura de água e óleo, passa de seguida por um condensador, que provoca o arrefecimento da mistura e a formação de duas fases líquidas que, em vaso florentino, podem ser separadas devido às diferentes densidades, sendo que os componentes voláteis e a água são imiscíveis. (4,13,14)

1.2.2. Destilação por arrastamento de vapor

Na destilação por arrastamento de vapor, a estrutura vegetal não se encontra em contato direto com a água. Esta técnica é mais simples do que a hidrosdestilação, é mais rentável e pode utilizar-se em estruturas mais sensíveis à temperatura. Neste método, o material vegetal normalmente é triturado ou moído e existe uma caldeira para geração de vapor, um destilador, um condensador e o recipiente final para a colheita (vaso florentino). O vapor provoca o arrastamento do óleo até ao condensador, onde ocorre a mudança para a fase líquida. Tal como na hidrosdestilação, há a separação das duas fases pela diferença de densidades. (13,14)

Embora a destilação pareça ser um processo simples, tem algumas desvantagens, como o elevado custo de energia, o longo tempo de extração, a extração simultânea de outros componentes polares (cumarinas, pigmentos vegetais) e ainda, a degradação de alguns compostos sensíveis à temperatura ou a hidrólise de alguns compostos como os ésteres. (11,13)

1.3. Extração por solventes orgânicos

A extração por solventes orgânicos pode ser utilizada em alguns óleos que são muito instáveis a temperaturas elevadas. Os solventes orgânicos utilizados são por exemplo o hexano, o benzeno, o metanol, o etanol, a acetona e solventes clorados. Neste método, o material vegetal é colocado em contato com o solvente, que o dissolve. Após a extração, a mistura líquida que contém o OE e outros componentes da planta, passa por um processo de filtração para separação das fases sólida e líquida e posterior destilação para obtenção do OE. Este método tem um custo económico baixo, reduz a existência de alterações químicas provocadas por temperaturas elevadas e é relativamente rápido. No entanto, o OE produzido poderá conter resíduos do solvente utilizado, pelo que não se utiliza esta técnica na Indústria alimentar ou farmacêutica, sendo também uma técnica que representa riscos para o meio ambiente. (11–14)

1.4. Outros métodos de extração

Nos últimos tempos, para contornar as desvantagens dos métodos tradicionais, têm surgido outras técnicas de extração de OE, mais ecológicas e sustentáveis. Uma destas técnicas é a extração por fluidos supercríticos (estes possuem características únicas, tendo o poder de penetração de um gás). O CO₂ é o gás utilizado na extração de OE, por ser volátil, quimicamente inerte, inodoro, apresentar baixo custo e não ser tóxico nem inflamável. Este é submetido a condições de pressão e temperatura em que atinge o estado de fluido supercrítico. Ao estar em

contato com a planta, age como solvente. Após o equilíbrio da pressão, o CO₂ volta ao estado gasoso, ficando o OE. O uso deste método tem aumentado nas últimas duas décadas, no entanto requer um custo elevado nos equipamentos e nas operações de manutenção. (10–14)

Existem ainda outros métodos de extração de OE que têm vindo a ser desenvolvidos, entre eles a extração por líquidos subcríticos, extração por ultrassom, extração assistida por microondas, entre outros. (13)

2. Composição química dos Óleos Essenciais

Os OE são sintetizados e armazenados em estruturas secretoras internas, como células secretoras, cavidades e canais e, em estruturas secretoras externas, como tricomas glandulares e osmóforos. (8)

A composição química dos OE varia de acordo com a espécie vegetal, alterações genéticas, localização geográfica, habitat, estado de maturação, parte da planta de onde são extraídos, método de extração e armazenamento dos mesmos. (2,3,7,15,16) São misturas complexas que podem conter entre 20 a 60 componentes em concentrações bastante diferentes. Os seus compostos químicos podem ser divididos em dois grupos com origem biossintética distinta: o grupo principal corresponde aos terpenos ou terpenóides e, o segundo grupo, aos constituintes aromáticos e alifáticos (Figura 1). Todos estes compostos são caracterizados por um baixo peso molecular. (2,5,17,18)

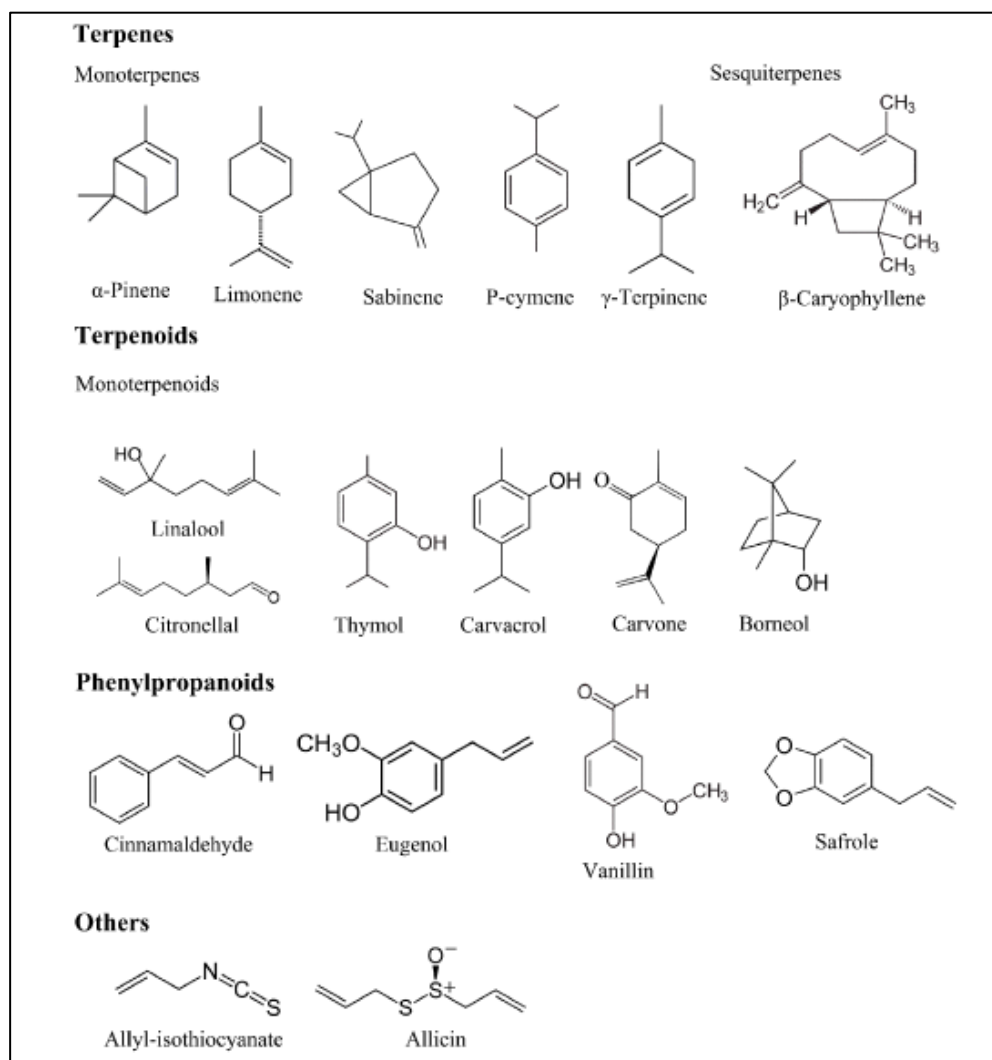


Figura 1. Estruturas químicas de alguns constituintes dos OE. De acordo com (19)

Geralmente, os componentes principais determinam as propriedades biológicas dos OE e estão presentes em concentrações maiores (20 a 70%) e, os outros componentes, encontram-se em quantidades vestigiais. Embora estes últimos estejam presentes em quantidades pequenas, também têm um papel significativo nas atividades biológicas dos OE, atuando em sinergismo com os constituintes principais. (5,16)

2.1. Terpenos

Os terpenos são o grupo químico mais comum na composição dos OE. A sua estrutura básica é o isopreno, estrutura com 5 carbonos (C_5) e, a sua classificação, depende do número de unidades de isopreno, como mostra a tabela 1. (5,8,18)

Tabela 1. Classificação dos terpenos em função de unidades de isopreno. Adaptado de (8)

Designação	Nº de unidades de Isopreno (C_5)
Monoterpenos	2 unidades C_5 (C_{10})
Sesquiterpenos	3 unidades C_5 (C_{15})
Diterpenos	4 unidades C_5 (C_{20})
Triterpenos	6 unidades C_5 (C_{30})
Tetraterpenos	8 unidades C_5 (C_{40})
Politerpenos	mais de 8 unidades C_5 (C_{5n})

De todas as estruturas apresentadas na tabela, os monoterpenos e sesquiterpenos são os mais comuns na composição dos OE. Os sesquiterpenos são moléculas maiores do que os monoterpenos, mas a sua estrutura e propriedades são semelhantes. Os diterpenos, triterpenos e tetraterpenos estão presentes nos OE em concentrações mais baixas. (5,17)

Os terpenos são biossintetizados no citoplasma das células vegetais, através de duas vias: a via do ácido mevalónico e a via do 5-fosfato de desoxixilulose (figura 2).

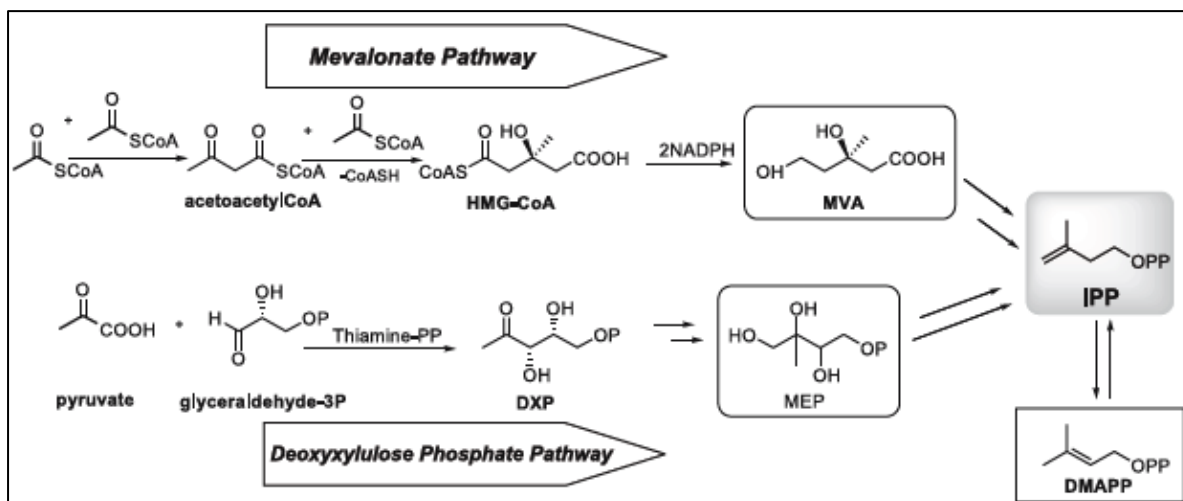


Figura 2. Biossíntese de terpenos através das diferentes vias. De acordo com (18)

Na primeira via, dá-se a condensação de três moléculas de acetil-CoA em ácido mevalônico (com 6 carbonos) e este é o precursor do difosfato de isopentenilo (IPP) e do difosfato de dimetilalilo (DMAPP). A condensação destas duas moléculas forma o geranyl difosfato (GPP), com 10 carbonos. O GPP é o precursor imediato de todos os monoterpênicos. (5,8,18–20)

Na via do 5-fosfato de desoxixilulose, há a condensação do fosfato de gliceraldeído e do piruvato. Através de uma série de reações formam-se também o IPP e o DMAPP, que conduzem à formação do GPP. (8,18)

Os terpenóides são terpenos que sofrem modificações bioquímicas através de enzimas que adicionam moléculas de oxigênio e movem ou removem grupos metilo. Estes resultam assim em estruturas químicas com compostos oxigenados como fenóis (timol, carvacrol); aldeídos (citral, citronelal, cinamaldeído); cetonas (mentona, cânfora, tujona, verbenona); ésteres (acetato de bomilo, acetato de citronelilo); álcoois (mentol, geraniol, α -bisabolol), entre outros. (2,5,17,19) OE de famílias como a Lamiaceae, Apiaceae, Asteraceae são ricos em terpenóides. (7,15)

2.2. Compostos aromáticos

Os compostos aromáticos ou fenilpropanóides, estão presentes nos OE com menos frequência do que os terpenos. (5) São biossintetizados pela via do ácido xiquímico através do aminoácido fenilalanina. (Figura 3) A sua estrutura química é constituída por seis carbonos aromáticos do

grupo fenol e por uma cauda de propeno de três carbonos do ácido cinâmico (produzido na primeira etapa da sua biossíntese). (18,19)

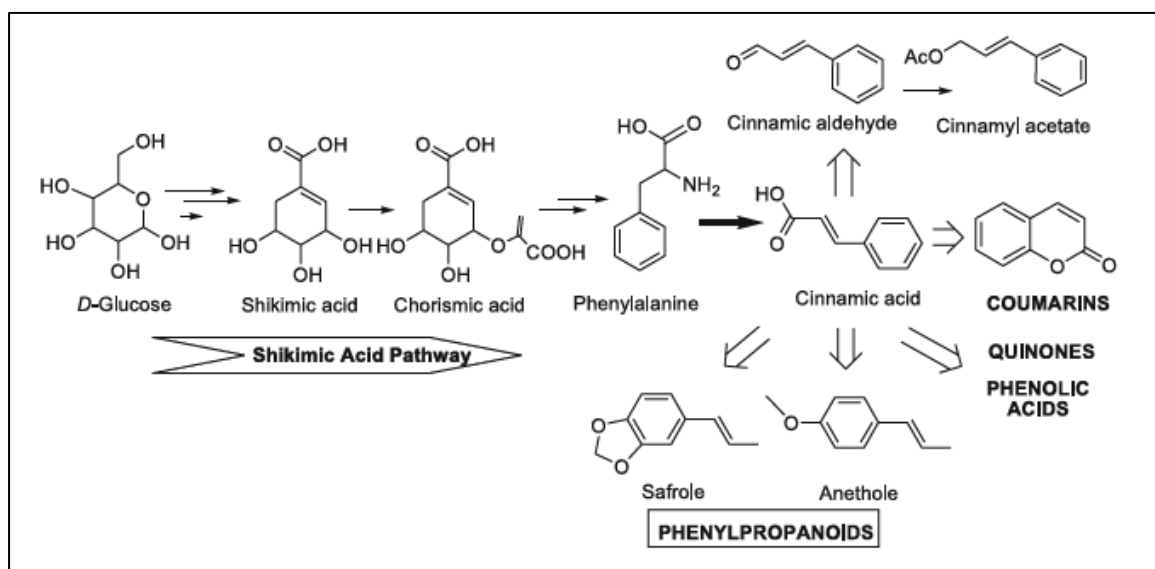


Figura 3. Síntese de fenilpropanóides pela via do ácido xiquímico. De acordo com (18)

Estes compostos representam uma parte pequena dos OE. São encontrados em algumas plantas mais conhecidas como especiarias, como por exemplo o anis estrelado, a canela, o cravinho, o funcho, a noz-moscada, a salsa e o estragão, pertencentes a algumas famílias botânicas como Apiaceae, Lamiaceae, Myrtaceae e Rutaceae. O eugenol, isoeugenol, vanilina e cinamaldeído são exemplos de fenilpropanóides mais estudados. (5,21)

3. Mecanismos de ação dos Óleos Essenciais

3.1. Atividade antibacteriana

Os OE têm demonstrado uma promissora ação antibacteriana contra uma vasta gama de microrganismos. Podem ter um efeito bacteriostático, travando o crescimento das bactérias ou, bactericida, em que provocam a morte das mesmas. Esta atividade depende da composição química, dos grupos funcionais, interações sinérgicas entre os constituintes, das partes da planta onde estes se encontram, época da colheita e método de extração dos óleos. (3,17,22–24)

A atividade antibacteriana de diferentes OE está documentada contra bactérias Gram-positivas, como *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e Gram-negativas, como *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter* spp. (3)

As bactérias Gram-positivas e Gram-negativas diferem na sensibilidade aos OE, sendo que na maioria, estes são mais ativos sobre as bactérias Gram-positivas. Estas diferenças podem ser explicadas devido à natureza mais resistente das bactérias Gram-negativas, em que a sua parede celular contém lipopolissacarídeos (LPS), que atuam como barreira a macromoléculas e compostos hidrofóbicos. Já nas bactérias Gram-positivas, a composição química da parede celular é diferente, o que aliás permite a distinção entre Gram-negativas e Gram-positivas. Deste modo as extremidades lipofílicas dos ácidos lipoteicóicos da membrana celular externa, facilitam a penetração dos compostos hidrofóbicos dos OE. (2,3,17,25) Existem alguns OE que são eficazes em ambos os grupos de bactérias, tais como os OE de orégão (*Origanum vulgare*), de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*; syn. *Eugenia caryophyllata*) e de canela (*Cinnamomum verum*). (23)

São vários os mecanismos propostos para explicar esta atividade dos OE, sendo que um deles é a interação com a membrana celular das bactérias. A integridade desta é essencial para a sobrevivência das bactérias porque permite que as atividades biológicas fundamentais ocorram no interior das células. A natureza lipofílica dos OE facilita a sua penetração na membrana celular das bactérias, aumentando a permeabilidade e provocando a rutura desta. Este processo provoca a saída de iões intracelulares, a redução do potencial de membrana, a desintegração da bomba de protões e alteração de muitos processos vitais, incluindo a produção de adenosina trifosfato (ATP). Outras funções reguladoras do metabolismo são também alteradas e há a

interrupção das funções das mitocôndrias, provocando a morte celular. A alteração da integridade da membrana plasmática também leva à perda de ácidos nucleicos e outros componentes celulares, desnaturação de proteínas citoplasmáticas e inativação de enzimas celulares que levam à morte da célula bacteriana. (2,3,15,21,22,26) Demonstrou-se que o OE da árvore do chá inibe o crescimento de *S. aureus* e *E. coli*, alterando a permeabilidade celular, o que provoca a perda de íons K^+ do interior da célula, levando à alteração da respiração celular. (22,27)

Outro mecanismo proposto para a atividade dos OE enquanto antibacterianos, é a inibição da comunicação entre as células bacterianas (quorum sensing). Este processo permite às células bacterianas a regulação de atividades como a expressão de fatores de virulência, bioluminescência e formação de biofilme. Os componentes dos OE vão interagir com os recetores da parede celular bacteriana, reduzindo a recepção do sinal da molécula sinalizadora. O OE de *Citrus reticulata* (tangerina) mostrou ter um efeito inibitório na formação de biofilme por *P. aeruginosa*. (21,26)

Na figura 4 apresenta-se um esquema exemplificativo de alguns dos mecanismos de ação de OE sobre bactérias.

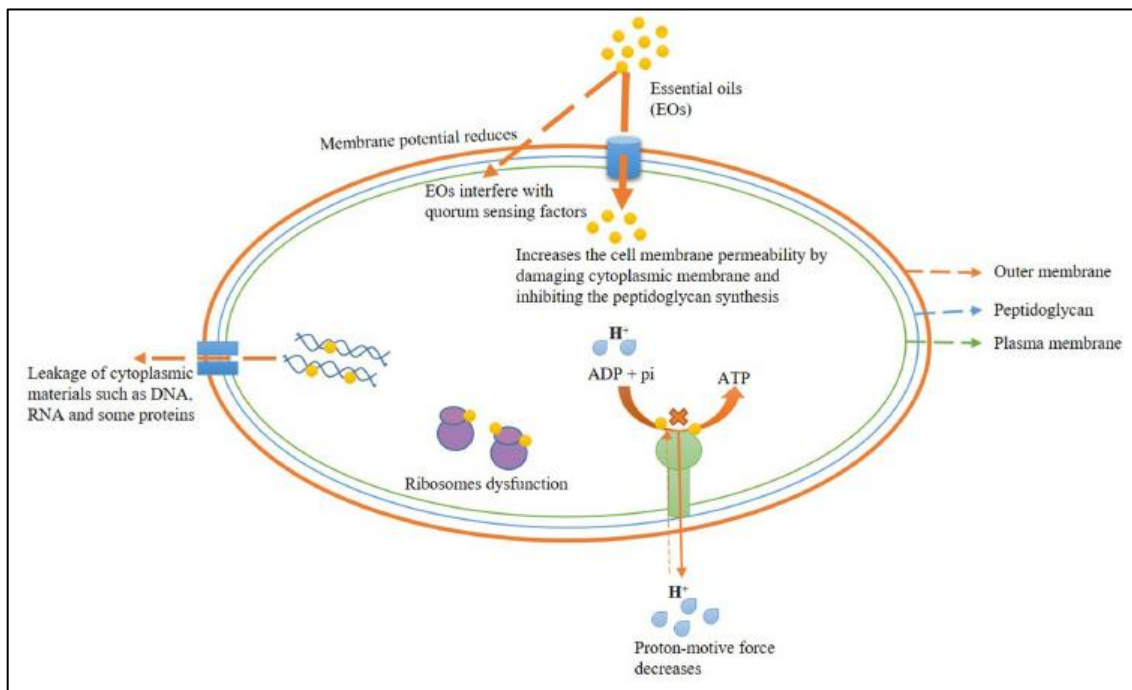


Figura 4. Mecanismos e locais de ação dos OE na atividade antibacteriana. De acordo com (26)

Os OE que contêm fenóis e aldeídos (como carvacrol, timol, eugenol e cinamaldeído) caracterizam-se por uma elevada atividade antibacteriana, seguindo-se os OE contendo álcoois terpênicos. Os que contêm cetonas ou ésteres, têm atividade mais fraca e os constituídos por hidrocarbonetos terpênicos são geralmente inativos. (2)

O grupo hidroxilo presente na estrutura dos compostos fenólicos confere-lhes atividade antimicrobiana. Isto pode explicar os efeitos antimicrobianos superiores do carvacrol, do timol e do eugenol comparados a outros compostos fenólicos vegetais. (17,21,26,27) Estes compostos têm um efeito antimicrobiano contra um amplo espectro de bactérias como *E. coli*, *Bacillus cereus*, *L. monocytogenes*, *S. enterica*, *Clostridium jejuni*, *S. aureus* e *Helicobacter pylori*. (2)

O carvacrol é um monoterpene fenólico e é o principal componente dos OE de orégãos e tomilho. Este composto atua na membrana das células bacterianas, aumentando a sua permeabilidade. Tem um amplo espectro de atividade antimicrobiana e consegue atuar nas bactérias Gram-negativas, provocando a libertação de LPS. Nas bactérias Gram-positivas, interage com a membrana da bactéria e aumenta a permeabilidade de catiões como H^+ e K^+ . (21)

O timol é estruturalmente análogo ao carvacrol (figura 5), mas a posição do grupo hidroxilo no anel fenólico difere entre as duas moléculas. À semelhança do carvacrol, a atividade antimicrobiana do timol também provoca modificações estruturais e funcionais na membrana citoplasmática da célula bacteriana, alterando a sua permeabilidade. (19,21)

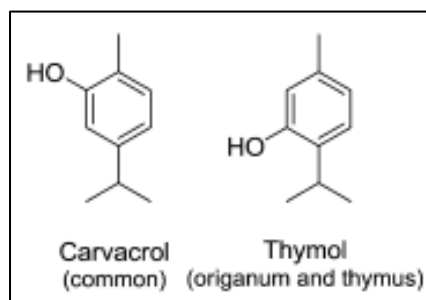


Figura 5. Estruturas químicas do carvacrol e do timol. De acordo com (28)

A elevada atividade antimicrobiana dos OE do tomilho e dos orégãos é atribuída ao timol e ao carvacrol. Estes OE conseguem inibir algumas estirpes de bactérias patogénicas, tais como *B. cereus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella choleraesuis*, *S. typhimurium* e *S. aureus*. (3,24,29)

O eugenol é um fenilpropanóide e encontra-se nos OE de cravinho, noz-moscada, canela, manjeriço e louro. A sua atividade antimicrobiana está ligada à capacidade de permeabilizar a membrana celular e interagir com as proteínas. O OE de cravinho inibe a produção de amilase e protease por *B. cereus*. (19,21) Os OE de *E. caryophyllata*, *S. aromaticum*, *Ocimum basilicum* são ricos em eugenol. (24)

A atividade antimicrobiana do OE da canela tem sido relacionada com o seu teor de cinamaldeído. Este OE tem eficácia contra uma gama diversificada de agentes patogénicos bacterianos, como *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pyogenes*, *S. aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *B. cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Mycobacterium smegmatis*, *P. aeruginosa* e *Clostridium perfringens*. (3,22)

O OE de poejos (*Mentha pulegium*) apresenta atividade sobre *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *L. monocytogenes*, *B. subtilis*, *E. coli* e *P. mirabilis*. Já o OE de hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) tem atividade antibacteriana nas bactérias *S. aureus*, *Micrococcus flavus*, *B. subtilis*, *S. enteritidis*, *Staphylococcus epidermidis* e *E. coli*. (3)

Os OE de plantas como os cominhos e coentros têm efeitos inibitórios em bactérias como *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas fluorescens* e *S. aureus*. Os OE de manjerona e manjeriço têm atividade contra *B. cereus*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli* e *Salmonella*. (23)

O OE de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) mostrou atividade antimicrobiana tanto em bactérias Gram-positivas (*S. aureus* e *B. subtilis*) como em Gram-negativas (*E. coli* e *Klebsiella pneumoniae*). Os principais componentes do OE de alecrim são monoterpenos tais como α -pineno, β -pineno, mirceno, 1,8-cineol, borneol, cânfora e verbinona. Estes componentes alteram a integridade da membrana das bactérias. (3,17)

O OE de lavanda (*Lavandula angustifolia*) apresenta atividade antimicrobiana sobre a *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*. Os OE de erva-cidreira e sálvia exibem atividade contra *L. monocytogenes* e *S. aureus* (3,23)

Na tabela 2, apresentam-se alguns dos OE mais comuns e as culturas bacterianas onde está referida atividade, embora na bibliografia não estejam disponíveis alguns valores de CMI.

Tabela 2. Alguns OE e culturas bacterianas onde apresentam atividade. Adaptado de (3)

Óleo Essencial	Cultura bacteriana
<i>Artemisia herba alba</i> (absinto branco)	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Anethum graveolens</i> (endro)	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Campylobacter coli</i> <i>Campylobacter jejuni</i>
<i>Cinnamomum camphora</i> (canforeira)	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Cuminum cyminum</i> (cominho)	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Campylobacter coli</i> <i>Campylobacter jejuni</i>
<i>Cymbopogon nardus</i> (citronela)	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Elettaria cardamomum</i> (cardamomo)	<i>Campylobacter coli</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Melaleuca alternifolia</i> (melaleuca)	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Salvia officinalis</i> (sálvia)	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella enteritidis</i> <i>Campylobacter jejuni</i>
<i>Syzygium aromaticum</i> (cravo-da-índia)	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella typhimurium</i>

<i>Zanthoxylum bungeanum</i> (pimenta de Sichuan)	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Zingiber officinale</i> (gengibre)	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

3.2. Atividade antifúngica

Os fungos, sendo eucariotas, têm semelhanças celulares e moleculares com os seus hospedeiros, sendo um alvo difícil de atingir. (15) Nos alimentos, os fungos provocam alterações das suas propriedades como a cor e textura, levando à redução da qualidade e dos nutrientes presentes nos mesmos. A contaminação de alimentos por *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* e *Rhizopus* spp. provoca infeções alimentares e outros perigos para a saúde. Culturas de cereais, frutas e legumes, são muito suscetíveis ao ataque de fungos durante a cultura das plantas e no armazenamento de colheitas. Os fungos podem produzir substâncias químicas como metabolitos secundários (as micotoxinas) e têm também a capacidade de produzir um grande número de esporos assexuados. (13,25)

Também aqui alguns OE se destacam por terem propriedades antifúngicas, sendo que estas dependem da presença de diferentes constituintes, como monoterpenos, sesquiterpenos, fenóis, aldeídos e cetonas, que interagem entre si tendo efeitos sinérgicos. Os compostos fenólicos estão descritos como os mais eficazes, sendo que os OE de orégãos e tomilho (constituídos por timol e carvacrol), são bons inibidores de agentes fúngicos, tendo a capacidade de romper as membranas celulares dos mesmos. (22,26,30)

Devido à natureza hidrofóbica dos OE, um dos seus mecanismos de ação como antifúngicos, está na capacidade de interferirem com a síntese de ergosterol, componente da membrana plasmática de células de fungos. O ergosterol, é responsável pela integridade e funcionamento da membrana celular dos fungos, sendo também útil para a biogénese de algumas enzimas ligadas à membrana. Exemplos de OE que conseguem inibir a síntese de ergosterol em células fúngicas são os das espécies de *R. officinalis*, *Piper betlee* (betre) e *Cistus ladanifer* (esteva). (26) O eugenol, presente no OE de *O. basilicum*, inibe a síntese de ergosterol, mostrando atividade em algumas espécies de fungos, como *Candida albicans* e *Cryptococcus neoformans*. (27,31)

Outro mecanismo de atuação dos OE como antifúngicos é a alteração da membrana plasmática dos mesmos, provocando a perda de íons como K^+ , Ca^{2+} e Mg^{2+} , havendo assim um desequilíbrio eletrolítico no citoplasma das células dos fungos e posteriormente, morte celular. (26)

Os OE têm ação na permeabilidade e fluidez da membrana plasmática, tendo a capacidade de penetrar e romper a parede celular dos fungos e as membranas do protoplasma através de um processo de permeabilização. Ao inibirem a função da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, provocam a redução do potencial da membrana mitocondrial, a inibição da bomba de prótons e, a redução da produção de ATP, levando à morte celular. Podem interagir também com outros organelos celulares, como os ribossomos, retículo endoplasmático e complexo de Golgi. (22,26) O OE de *Origanum compactum*, *Artemisia herba alba* (artemisia) e *Cinnamomum camphora* (canfora) mostraram um aumento do número de alterações mitocondriais em *Saccharomyces cerevisiae*.(30)

Os OE também podem ter ação no Ácido desoxirribonucleico (ADN) e na expressão genética dos fungos, afetando a reprodução e crescimento das células. (26)

A figura 6 mostra alguns dos mecanismos de ação dos OE enquanto antifúngicos.

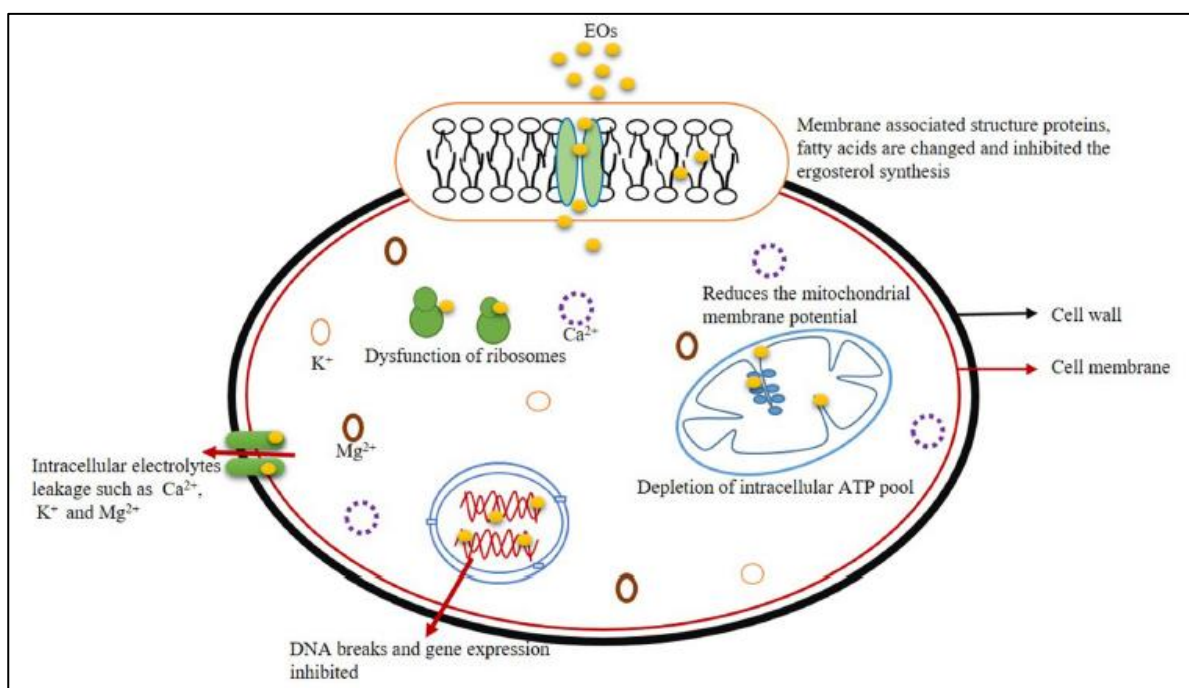


Figura 6. Mecanismos e locais de ação dos OE na atividade antifúngica. De acordo com (26)

Um dos OE mais estudados na ação antifúngica é o de alecrim. Este demonstra atividade sobre várias espécies *Fusarium*, *Mucor pusillus*, *Aspergillus oryzae*, *Botrytis cinérea*, *Alternaria alternata* e *Aspergillus niger*, ainda que em concentrações diferentes. Não mostrou atividade nos fungos *Aspergillus flavus*, *Penicillium miniolateum* e *Penicillium oxalicum*.(3)

Os OE de diferentes espécies de tomilho demonstraram ter um amplo espectro de atividade antifúngica contra fungos como *Aspergillus carbonarius*, *A. niger*, *A. flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium* spp., *Fusarium solani* e *B. cinérea*. Nesses estudos, foram observadas diferenças nos valores da concentração mínima inibitória (CMI), que podem estar relacionadas com a composição do OE, diferentes zonas de localização geográfica da planta, época de colheita ou parte da planta que foi usada durante a preparação do OE.(3)

Quanto ao OE de cravo-da-índia, a sua atividade antifúngica tem sido atribuída ao seu principal componente, o eugenol. Tem atividade na inibição dos fungos *A. niger*, *A. Flavus*, *A. oryzae*, *Aspergillus ochraceus*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium citrinum* e *Rhizopus nigricans*. Estudos in vitro também mostraram ação antifúngica deste OE na prevenção de bolores em morangos e romã. (3)

O cominho, além de ser uma das especiarias mais populares do mundo pelo seu sabor característico, também tem o seu OE que demonstrou atividade antifúngica contra *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *B. cinérea*. (3)

Diferentes variedades de orégãos, também têm sido estudadas quanto à atividade antifúngica. O OE de *O. vulgare* inibe o fungo *Fusarium verticillioides* e o de *Poliomintha longiflora* (orégão mexicano) também demonstrou propriedades antifúngicas, pelo seu teor em timol, carvacrol e *p*-cimeno. (3)

O OE de canela demonstrou ser eficaz na inibição de *Penicillium* spp., *A. flavus*, *A. ochraceus* e *A. niger*. Os componentes mais ativos do mesmo são o eugenol e o cinamaldeído. Em *A.flavus* foi usada uma CMI muito baixa. (3,13)

A maioria dos componentes do OE da *Melaleuca alternifolia* (melaleuca) apresenta propriedades antifúngicas, mais propriamente fungicidas, contra dermatófitos e fungos

filamentosos, como *A. niger*. Este OE também apresenta atividade direta contra biofilmes de *C. albicans*. (1,30)

Nos seus ambientes naturais, a maioria dos fungos forma biofilmes, agregados de células fúngicas que estão fortemente ligadas às superfícies umas das outras, protegidas por uma matriz extracelular polimérica, constituída por polissacáridos. Estes biofilmes conferem proteção e resistência às células fúngicas, facilitando o seu crescimento. Isto verifica-se na levedura patogénica *C. albicans*, *C. neoformans* ou *Aspergillus fumigatus*. Alguns OE, como por exemplo os de coentros e manjerição demonstraram atividade como inibidores de biofilme em *C. albicans*. Moléculas como o linalol e o eugenol têm essa capacidade. (30)

Como já referido, outro aspeto a ter em conta na atividade dos fungos, é a produção de micotoxinas que podem ser tóxicas para o ser humano. Um exemplo são as aflatoxinas, muito nocivas para a saúde. Aqui, o OE de efedra mostrou reduzir o crescimento e a produção de aflatoxinas por *A. parasiticus* e, os OE de ambrósia e açafraão-da-terra também inibiram a produção de aflatoxinas pela estirpe *A. flavus*. (27)

Na tabela 3 apresentam-se mais alguns OE conhecidos e as espécies fúngicas onde estes têm atividade, embora na bibliografia não estejam disponíveis alguns valores de CMI.

Tabela 3. Alguns OE com atividade antifúngica e respetivos fungos onde atuam. Adaptado de (3,13)

Óleo Essencial	Espécies fúngicas
<i>Anthemis nobilis</i> (camomila)	<i>Aspergillus candidus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Penicillium</i> spp.
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> (canela)	<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Fusarium</i> spp. <i>Penicillium citrinum</i> <i>Penicillium viridicatum</i>
<i>Citrus</i> (vários citrinos)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium verrucosum</i>

<i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i> <i>Fusarium moniliforme</i>
<i>Malva sylvestris</i> (malva)	<i>Aspergillus candidus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Fusarium culmorum</i> <i>Penicillium spp.</i>
<i>Mentha piperita</i> (hortelã-pimenta)	<i>Alternaria alternaria</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus variegatus</i> <i>Fusarium acuminatum</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium tabacinum</i> <i>Rhizoctomia solani</i>
<i>Rosmarinus officinalis</i> (alecrim)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus oryzae</i> <i>Botrytis cinerea</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium proliferatum</i> <i>Mucor pusillus</i> <i>Penicillium expansum</i>
<i>Thymus vulgaris</i> (tomilho)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Penicillium brevicompactum</i> <i>Penicillium expansum</i>
<i>Zingiber officinale</i> (gengibre)	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus fumigates</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus ochraceus</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Penicillium chrysogenum</i> <i>Penicillium citrinum</i>

3.3. Atividade antioxidante

Os radicais livres e outras espécies reativas contendo oxigénio provocam a oxidação de biomoléculas como proteínas, aminoácidos, lípidos insaturados e ADN, estando assim associados a danos celulares. Estas alterações moleculares aceleram o envelhecimento e o aparecimento de doenças como aterosclerose, cancro, diabetes, asma, doença de Alzheimer,

entre outras. A eliminação de radicais livres é conseguida através de agentes antioxidantes.(3,15)

Alguns alimentos são muito propícios à oxidação. Os que são ricos em lípidos são facilmente oxidados, o que lhes provoca alterações no sabor, odor, textura e valor nutricional, levando à sua degradação. Os ácidos gordos insaturados ao reagirem com o oxigénio, levam à formação de peróxidos, iniciando-se a peroxidação e a oxidação dos lípidos. (16)

Os compostos antioxidantes podem prevenir, alterar e mesmo terminar reações oxidativas em concentrações relativamente baixas. São substâncias com poder redutor, capazes de interagir com os radicais livres, evitando a oxidação de um material oxidável. Alguns OE possuem esta capacidade. (28)

Os OE podem atuar de diferentes modos. No geral, atuam como antioxidantes devido à sua reatividade com os radicais, por transferência do átomo de hidrogénio. Os radicais livres, formados por um ou mais eletrões desemparelhados, ao receberem o átomo de hidrogénio, estabilizam e diminuem a sua reatividade. (28,32)

Os constituintes fenólicos dos OE são considerados os principais agentes antioxidantes. Mas, compostos como álcoois, éteres, cetonas e aldeídos também contribuem para esta atividade e, o efeito sinérgico entre compostos, também explica a sua forte capacidade antioxidante. (3,15,16,29)

Os compostos fenólicos podem atuar nas três fases da oxidação, sendo elas a iniciação, a propagação e a terminação. São constituídos por um grupo hidroxilo (-OH) ligado diretamente a um átomo de carbono do anel aromático. A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redox, que permitem atuar como doadores de hidrogénio, agentes redutores e quelantes de metais. O átomo de hidrogénio do grupo hidroxilo pode ser doado aos radicais livres, impedindo assim que outros compostos sejam oxidados (2,17)

A atividade antioxidante dos OE, além de estar diretamente relacionada com a composição e origem dos mesmos, também depende do método de extração ou dos solventes utilizados, do período de colheita da planta e, da parte da planta sujeita à extração do OE. Por exemplo, o OE de canela pode ser obtido de diferentes partes, como casca, folha, flor e raiz, resultando em diferentes concentrações de compostos ativos e, conseqüentemente, diferentes atividades antioxidantes.(3,17)

Existem alguns métodos para determinar a atividade antioxidante dos OE, entre os quais os métodos de eliminação dos radicais 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS). O DPPH é um radical livre estável que estimula a atividade antioxidante dos compostos químicos dos OE. Os compostos antioxidantes presentes no OE reagem com o radical convertendo-o em 1-difenil-2-picril hidrazina. O método de eliminação do radical ABTS é muito usado na avaliação da atividade dos antioxidantes principalmente em alimentos. Inicialmente há a conversão do ABTS (incolor) no catião ABTS⁺ (azul), pela adição de K₂S₂O₈. Na presença de compostos antioxidantes, este catião é reconvertido na forma neutra ABTS, pelo que, quanto maior for o desaparecimento da cor azul da solução, maior será a atividade antioxidante. (31)

O timol e o carvacrol, são dois dos principais componentes relacionados com a forte atividade antioxidante de alguns OE. Estes compostos fenólicos possuem propriedades redutoras, atuando como agentes antioxidantes através da doação de átomos de hidrogénio aos radicais livres, evitando assim a oxidação. (2,3,15,33) Os OE de canela, noz-moscada, cravinho, manjerição, salsa, orégãos e tomilho caracterizam-se por terem importantes propriedades antioxidantes, sendo que o timol e o carvacrol são os seus compostos mais ativos. (2)

Existem estudos que revelam a atividade antioxidante dos OE de várias espécies, como *Nigella sativa* (cominho preto), *O. basilicum* (manjerição), *Aetheroleum menthae piperitae* (hortelã-pimenta), *Zingiber officinale* (gengibre), *Laurus nobilis* (louro), *L. angustifolia* (lavanda), *Piper nigrum* (pimenta preta), *R. officinalis* (alecrim), entre outras. (3,31) As espécies de *Salvia cryptantha* e *Salvia multicaulis* têm a capacidade de eliminar radicais livres. Estudos demonstraram que a atividade destes óleos foi mais elevada do que a da curcumina, ácido ascórbico ou butilhidroxitolueno (BHT). (29)

O OE de erva-cidreira apresenta uma atividade antioxidante marcada, tendo a capacidade de eliminação de radicais livres. Os constituintes que contribuem para esta atividade são o neral e geranial, citronelal, isomentona e mentona.(29)

Também o OE de melaleuca tem sido sugerido como uma alternativa antioxidante natural ao BHT com a atividade antioxidante atribuída principalmente ao teor de α -terpineno, γ -terpineno e α -terpinoleno. (29)

A capacidade antioxidante dos OE de citrinos também é muito conhecida. Examinaram-se e compararam-se num estudo as atividades antioxidantes de vários OE de citrinos, usando os métodos DPPH e ABTS. O OE de pomelo (*Citrus maxima*) apresentou a atividade antioxidante

mais baixa de acordo com ambos os métodos. Por outro lado, o de bergamota (*Citrus medica var. sarcodactylis*) foi o que mostrou uma atividade antioxidante mais forte pelo método DPPH e, o OE de lima (*Citrus aurantium*) apresentou a maior atividade antioxidante pelo método ABTS. Isto mostra que a atividade antioxidante entre OE também pode variar dependendo do método de análise utilizado. (3)

Na tabela 4 são apresentadas algumas espécies que contêm OE com atividade antioxidante reconhecida na literatura, bem como os principais constituintes que lhes conferem essa atividade.

Tabela 4. OE com atividade antioxidante e seus principais constituintes. Adaptado de (3,28)

Óleo Essencial	Principais constituintes
<i>Origanum vulgare</i> (orégão)	Timol Carvacrol γ -terpineno
<i>Thymus vulgaris</i> (tomilho)	Timol Carvacrol Timoquinona Eugenol β -pineno
<i>Syzygium aromaticum</i> . (cravo-da-índia)	Eugenol
<i>Ocimum minimum</i> (manjerico)	Eugenol α -terpinoleno 1,8-cineol
<i>Nigella sativa</i> (cominho preto)	Timoquinona Carvacrol
<i>Aetheroleum menthae piperitae</i> (hortelã-pimenta)	Mentol Mentona Acetato de mentol 1,8-cineol
<i>Cinnamomum zeylanicum</i> (canela)	Cinamaldeído Eugenol β -cariofileno
<i>Citrus aurantium</i> . (lima)	D-Limoneno γ -terpineno Linalol Octanal α -pineno

<i>Mentha pulegium</i> (poejo)	Pulegona Mentol Mentona Cis-isopulegona
<i>Mentha viridis</i> (hortelã comum)	Carvona 1,8-cineol Canfeno
<i>Melaleuca alternifolia</i> (malaleuca)	Terpineno-4-ol γ -terpineno α -terpineno
<i>Laurus nobilis</i> (louro)	1,8-cineol Acetato de α -terpinilo 4-terpineol
<i>Zingiber officinale</i> (gengibre)	Canfeno β -felandreno 1,8-cineol α -zingibereno

4. Aplicações

A segurança alimentar é uma das questões mais importantes na indústria alimentar e, parte da investigação nesta área é dedicada a aumentar o conhecimento sobre a produção de alimentos seguros e o desenvolvimento de novos métodos ou tecnologias para melhorar a sua segurança. (34) A consciencialização dos consumidores em relação à alimentação e à saúde também tem aumentado nos últimos anos, o que leva a uma maior procura de alternativas naturais que garantam a segurança e a qualidade dos alimentos. Esta procura reflete-se na investigação de novas tecnologias para a preservação dos alimentos durante a sua produção, transporte e armazenamento. A utilização de produtos naturais como os OE, pela sua natureza ecológica e pelo facto de serem geralmente reconhecidos como seguros, é uma alternativa ao uso de aditivos sintéticos associados a toxicidade. No entanto, na prática, a utilização de OE como conservantes eficazes na indústria alimentar é um desafio, devido à sua natureza volátil, menor solubilidade e elevada instabilidade. (16,26,33,35)

A partir da década de 90 aumentou o número de estudos sobre a aplicação de OE enquanto conservantes dos alimentos. Verificando-se uma atividade antimicrobiana destes nos ensaios *in vitro*, concluiu-se que geralmente é necessária uma maior concentração de OE para apresentar o mesmo efeito nos alimentos. (33,35)

A bioatividade dos OE pode ser influenciada pelo pH, temperatura, estrutura dos alimentos e, por certos constituintes dos alimentos como gorduras, proteínas, sal, água e antioxidantes. Elevadas quantidades de gorduras e proteínas nos alimentos terão uma ação protetora para as bactérias e, níveis elevados de água ou sal, podem facilitar a ação dos OE. (35,36) Verificou-se num estudo que o OE de hortelã teve uma maior atividade antibacteriana contra *L. monocytogenes* e *S. enteritidis* em salada de pepino e iogurte (baixo teor de gordura) do que em salada de ovas de peixe (elevado teor de gordura), nas mesmas bactérias. Isto mostra que níveis elevados de gorduras podem contribuir para a dissolução dos OE, podendo estes atuar como antioxidantes dos lípidos, mas ficando menos disponíveis para atuar sobre os microrganismos. Noutro estudo, o OE de cravinho aplicado em queijo com baixo teor de gordura, mas rico em proteínas, teve uma baixa atividade antibacteriana sobre *S. enteritidis*. (35) Já com a diminuição do pH dos alimentos, a hidrofobicidade dos OE aumenta, facilitando a sua penetração através da parede celular das bactérias, aumentando assim a suscetibilidade das bactérias aos OE. (35,36)

4.1. Produtos de padaria e pastelaria

Os produtos de padaria e pastelaria tendem a deteriorar-se rapidamente quando não lhes são adicionados conservantes. A deterioração destes produtos pode dar-se na forma de alterações físicas, químicas e/ou microbiológicas. (37) O último tipo de alteração é o que causa maior preocupação e, o tipo mais comum é o surgimento de bolores, que determina o prazo de validade destes alimentos. (37,38)

Os OE, com as suas propriedades antimicrobianas, oferecem um carácter protetor relativamente a esta deterioração. Estes podem ser utilizados como parte integrante da formulação do produto de padaria e pastelaria, ou podem ser incorporados na embalagem de modo a aumentar o tempo de vida útil do produto. Os OE de mostarda, canela e alho demonstraram ser eficazes no controlo da deterioração por fungos comuns que contaminam o pão. (37,38)

A integração de OE na formulação de produtos de padaria e pastelaria permite não só melhorar as propriedades antimicrobianas e antioxidantes, mas também melhorar o sabor e aroma dos mesmos. A técnica de embalagem utilizada é importante para aumentar o tempo de vida útil dos produtos. Existem embalagens com atmosfera modificada, onde se substitui o oxigénio por dióxido de carbono, ou outros gases ou misturas de gases, para que não ocorra proliferação de microrganismos aeróbicos. Os OE podem ser integrados como uma camada ou filme no sistema de embalagem ou colocados em pacotes ao lado do produto alimentar dentro da embalagem. (37)

Antes da adição de qualquer OE é necessário ter em consideração que estes podem não ser compatíveis com outros conservantes utilizados no produto ou com o material de embalagem, sendo importante realizar previamente uma análise de compatibilidade entre todos os ingredientes da formulação e componentes da embalagem. (37)

Na tabela 5 é possível observar alguns exemplos da integração de diferentes óleos essenciais na formulação de produtos de padaria e pastelaria.

Tabela 5: Incorporação de OE no fabrico de produtos de padaria e pastelaria e microrganismos testados Adaptado de (37)

Produto	OE utilizado	Microrganismos testados	Observações
Bolo de manteiga	<i>Coriandrum sativum</i>	—	Verificou-se um aumento do prazo de validade do bolo e uma melhoria na estabilidade oxidativa do produto. O aumento da concentração do OE de 0,05% para 0,15% traduziu-se numa melhoria da atividade antifúngica.
	<i>Matricaria chamomilla</i>	Bolores Leveduras	Verificou-se uma melhoria na estabilidade oxidativa do produto. Houve um atraso no crescimento de bolores em amostras de bolo, com maior eficácia com concentrações mais elevadas, mas não tão eficaz como o sorbato de sódio.
	<i>Syzygium aromaticum</i>	Coliformes Bolores Leveduras	A utilização deste OE afetou negativamente as propriedades sensoriais. Verificou-se um atraso da oxidação do produto. O aumento da concentração do OE resultou numa melhoria da atividade antimicrobiana, mas afetou negativamente as características sensoriais do produto.
Bolo	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Aspergillus niger</i> <i>Candida albicans</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Enterococcus hirae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Salmonella choleraesuis</i> <i>Salmonella typhimurium</i>	Verificou-se um aumento do prazo de validade do produto. A maioria dos microrganismos estudados foi inibida durante o período de armazenamento (1 mês). Utilizaram-se OE livres e encapsulados. Ambos apresentaram atividade antioxidante e antimicrobiana elevadas. O valor da CMI do OE encapsulado foi menor que o livre.
Pão	<i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Penicillium expansum</i>	Verificou-se inibição durante o período de armazenamento (3 semanas) e o aumento inibitório com o aumento da concentração de OE utilizada. Não houve alterações nas propriedades sensoriais do pão.

	<i>Ilex paraguariensis</i>	Fungos	Devido aos compostos fenólicos presentes neste extrato com atividade antimicrobiana, verificou-se um aumento da vida útil do produto.
Queque	Casca de laranja	<i>Aspergillus</i> spp. <i>Fusarium</i> spp. <i>Penicillium</i> spp.	Utilizou-se uma concentração de 0,3%. Verificou-se efeito inibitório contra os microrganismos estudados, não havendo alterações das propriedades sensoriais do produto.
Pão de trigo	<i>Cinnamomum verum</i> <i>Citrus hystrix</i> <i>Citrus maxima</i>	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Rhizopus stolonifer</i>	Verificou-se que o OE de canela teve o efeito inibitório mais forte sobre os microrganismos estudados.
Pão de trigo e centeio	Mostarda	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Endomyces fibuliger</i> <i>Eurotium repens</i> <i>Penicillium commune</i> <i>Penicillium corylophilum</i> <i>Penicillium roqueforti</i> <i>Penicillium solitum</i>	Verificou-se um aumento da vida útil do pão, com a utilização OE de mostarda na formulação e com a embalagem em atmosfera modificada. As espécies <i>A. flavus</i> e <i>E. repens</i> demonstraram mais resistência.

4.2. Produtos lácteos

O leite e os produtos lácteos são uma fonte rica de nutrientes essenciais, fazendo parte de uma dieta saudável e completa. Devido à sua composição e propriedades únicas, estes alimentos constituem um meio propício ao crescimento de muitos microrganismos patogênicos e de deterioração. (39)

A contaminação do leite cru pode ocorrer devido a uma variedade de microrganismos, principalmente bactérias Gram-positivas, como *S. aureus*, *Enterococcus hirae* e *Bacillus licheniformis*. A diminuição da estabilidade do leite UHT (Ultra High Temperature) deve-se em grande parte, à degradação enzimática das proteínas (a proteólise é causada principalmente por enzimas microbianas). A oxidação, decorrente na gordura do leite, também é uma das principais reações de degradação que ocorre durante o processamento, distribuição e armazenamento de leite e produtos lácteos. (39)

No queijo, a deterioração pode ser causada por bactérias ou por fungos, variando com o tipo deste alimento. Os fungos mais comuns que causam deterioração nos queijos pertencem aos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Fusarium*, *Monilia* e *Alternaria*. Em

alguns tipos de queijo, como os frescos, também bactérias podem ser responsáveis pela sua deterioração, como *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *L. monocytogenes*, *E. coli*, *Salmonella*, entre outras. (40)

Na tabela 6 estão apresentados alguns exemplos da aplicação de OE essenciais em produtos lácteos e os respectivos microrganismos analisados.

Tabela 6. Aplicação de OE como conservantes em produtos lácteos e respectivos microrganismos testados.

Produto	OE utilizado	Microrganismos testados	Observações
Coalho	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Não se observaram efeitos inibitórios a 1,25µL/mL. Já a 2,5 µL/mL, <i>S.aureus</i> , <i>L.monocytogenes</i> e <i>Lactococcus</i> ssp. Foram inibidas. (40)
Gelado	<i>Citrus aurantium</i> <i>Citrus limon</i> <i>Citrus reticulata</i> ,	<i>Escherichia coli</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Não se verificou o crescimento das culturas bacterianas. A adição dos OE também melhorou as propriedades físico-químicas e sensoriais. (41)
Iogurte	<i>Mentha piperita</i> <i>Ocimum basilicum</i> <i>Zataria multiflora</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	Os OE mostraram atividade antioxidante. O OE de <i>Zataria multiflora</i> foi o que apresentou maior atividade inibitória sobre <i>E. coli</i> e <i>L. monocytogenes</i> . (41)
Leite UHT	<i>Thymus capitatus</i> (nanoemulsão)	<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Enterococcus hirae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	O OE de <i>Thymus capitatus</i> inibiu o crescimento bacteriano em diferentes leites contaminados e melhorou as propriedades físico-químicas, aumentando o prazo de validade. (39)

Manteiga	<i>Satureja cilicica</i>	_____	Estudou-se a atividade antioxidante do OE em diferentes concentrações, utilizando o DPPH e o fosfomolibdênio. Este mostrou ação antioxidante, que melhorou com o aumento da concentração. Melhorou ainda o sabor da manteiga. (42)
Queijo branco iraniano	<i>Bunium persicum</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	O OE de <i>B. persicum</i> diminuiu o crescimento das bactérias <i>E. coli</i> e <i>L. monocytogenes</i> e prolongou o prazo de validade durante 45 dias de armazenamento em comparação com as amostras de controlo. (26)
	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	O OE de <i>M. pulegium</i> , rico em pulegona e piperitenona, reduziu o crescimento de <i>L. monocytogenes</i> durante o armazenamento do alimento. (26)
Queijo de cabra	<i>Origanum compactum</i> <i>Thymus vulgaris</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Aspergillus flavus</i> <i>Fusarium solani</i>	O OE de <i>T. vulgaris</i> apresentou a maior atividade antibacteriana sobre <i>S. aureus</i> . A atividade mais baixa Foi registada no OE de <i>O. compactum</i> sobre <i>Y. enterocolitica</i> . O OE de <i>O. Compactum</i> inibiu completamente o crescimento de <i>A. flavus</i> e <i>Fusarium solani</i> . (40)
Queijo feta	<i>Origanum vulgare</i> <i>Thymus vulgaris</i> (em atmosfera modificada: 50% CO2 e 50% N2)	<i>Escherichia coli</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	O crescimento das culturas bacterianas foi inibido pelos OE. Ambos os OE apresentaram um maior efeito inibitório contra <i>L. monocytogenes</i> . (40)
Queijos gordos e magros	<i>Cinnamomum verum</i> <i>Pimenta racemosa</i> <i>Syzygium aromaticum</i> <i>Thymus vulgaris</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella enteritidis</i>	Os OE foram testados durante 14 dias de armazenamento. No queijo magro, com a concentração de 1%, os OE de cravo-da-índia e de canela foram os mais eficazes na redução da cultura de <i>L. monocytogenes</i> . No queijo gordo, apenas o mesmo OE a 1% foi eficaz na redução de <i>L. monocytogenes</i> . (40)

Queijo Wagashi	<i>Ocimum gratissimum</i>	<i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus tamaritii</i> <i>Fusarium poae</i> <i>Fusarium verticillioides</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>Penicillium griseofulvum</i>	Foi observada uma atividade fungistática significativa sobre todas as espécies examinadas com valores de CMI entre 800-1000 mg/L. As espécies <i>Penicillium</i> e <i>F. poae</i> foram as mais suscetíveis ao OE. O crescimento de micélios foi reduzido com o aumento das concentrações de OE. (40)
-----------------------	---------------------------	--	---

4.3. Carne

A carne e os produtos à base de carne requerem, além de um armazenamento em segurança e com condições higiênicas, a utilização de conservantes para evitar a deterioração por microrganismos de origem alimentar e por bactérias patogênicas. A aplicação de OE permite inibir o crescimento dos mesmos, conferindo propriedades benéficas. No entanto, a possível aplicação destes como antimicrobianos na carne e nos produtos à base de carne ainda não foi muito estudada, sendo necessários mais estudos que permitam aprofundar efeitos organoléuticos, o seu comportamento sinérgico e a sua funcionalidade. (43)

Bactérias como *Acinetobacter*, *Brochothrix thermosphacta*, *Enterobacter*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus curvatus* e *Pseudomonas*, estão entre as mais responsáveis pela deterioração da carne e dos produtos à base de carne. Estirpes patogênicas como *Aeromonas hydrophila*, *C. jejuni*, *C. perfringens*, *E. coli*, *L. monocytogenes* e *S. enterica*, bem como esporos de *B. cereus* e *Clostridium botulinum* podem colocar em risco a segurança alimentar. Leveduras e bolores também podem levar à alteração das carnes. (43)

Como já referido, também na carne, um teor elevado de gordura, reduz significativamente a ação dos OE. Por exemplo os OE de hortelã e de coentros não mostraram eficácia em produtos com um elevado teor de gordura como no paté (com 30-45% de gordura) e num revestimento para fiambre com óleo de canola. Neste último, a imobilização do OE de coentros num gel de gelatina, melhorou a atividade antibacteriana contra *L. monocytogenes*. (35)

Um estudo concluiu que o OE de alecrim encapsulado foi mais eficaz do que o OE de alecrim normal contra *L. monocytogenes* em salsichas de fígado de porco, embora não tenha sido elucidado se a diferença se deveu ao encapsulamento ou à maior concentração de OE utilizada. (35)

A tabela 7 apresenta, com base em estudos, um resumo da aplicação de OE em alguns produtos à base de carne e os respectivos microrganismos onde estes demonstraram atividade.

Tabela 7. Aplicação de OE como conservantes em produtos à base de carne e respectivos microrganismos testados.

Produto	OE utilizado	Microrganismos testados	Observações
Almôndegas de frango	<i>Ziziphora clinopodioides</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	O OE de <i>Z. clinopodioides</i> mostrou atividade como conservante natural em almôndegas de frango cruas armazenada a 4°C. (34)
Carne de aves	<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Brochotrix thermosphacta</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella enteritidis</i> <i>Salmonella typhimurium</i> <i>Shigella dysantheriae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Yersinia enterocolitica</i>	Eficácia contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O OE de cravo-da-índia foi mais eficaz do que o de alecrim e a aplicação dos dois apresentou uma melhor eficácia e aumentou o prazo de validade. (26)
Carne de vaca picada	<i>Cinnamomum cassi</i> <i>Citrus limon</i> <i>Melaleuca alternifolia</i> <i>Syzygium aromaticum</i> <i>Thymus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	No OE de <i>Melaleuca alternifolia</i> , a CMI foi de 0,10µl/ml. (26) Concentrações baixas de <i>Thymus</i> apresentaram uma redução significativa da cultura bacteriana. (43) O OE de cravo-da-índia evidenciou maior atividade do que o de canela. (43) O OE de <i>Citrus limon</i> teve um efeito inibitório durante 10 dias de armazenamento a 4°C. (34)

Carne de vaca marinada em vinho	<i>Juniperus communis</i> <i>Satureja montana</i>	Bactérias aeróbicas mesófilas <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	A marinada de vinho tinto com OE reduziu significativamente a cultura bacteriana em comparação com a amostra de controlo salina durante 15 dias a 4°C. (34,44)
Enchido curado	<i>Allium sativum</i> <i>Myristica fragrans</i> <i>Ocimum basilicum</i> <i>Origanum vulgare</i> <i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Thymus capitatus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Staphylococcus aureus</i>	A cultura de bactérias foi reduzida pela adição dos OE e, ao aumentar a concentração, observou-se um maior efeito antimicrobiano. (34,44)
Fiambre de peru	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	O controlo positivo e a amostra tratada com alecrim tiveram resultados semelhantes na contagem bacteriana durante 63 dias a 4°C. (34)
Fiambre fatiado	<i>Origanum vulgare</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	O tratamento controlo apresentou uma contagem de culturas bacterianas mais elevada, comparativamente com a amostra tratada com OE de orégãos na película comestível durante 40 dias a 4, 8 e 12°C. Ocorreu uma redução maior a 4°C. (34)
Filete de peito de frango	<i>Zingiber officinale</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella typhimurium</i>	O OE inibiu o crescimento dos microrganismos testados. (26,34)
Mortadela italiana	<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Thymus vulgaris</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	A mistura dos dois OE teve atividade antibacteriana. A carga de <i>L. monocytogenes</i> foi bastante mais reduzida do que nas amostras de controlo. (34)
Salsichas de frango	<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Foram inoculadas sete estirpes a 5 e 15°C. A adição de 1 ou 2% de OE de cravinho inibiu o crescimento bacteriano nas duas condições de armazenamento. Não se verificaram efeitos adversos no sabor. (34)
Salsichas frescas de peru	<i>Mentha suaveolens</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumonia</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella</i>	Com o aumento da concentração de OE utilizado, os níveis de inibição aumentaram para 26,5% e 42,4% nas bactérias <i>E. coli</i> e <i>S. aureus</i> , respetivamente. (43)

		<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	
Salsichas frescas de porco	<i>Salvia officinalis</i> <i>Satureja montana</i>	Bactérias aeróbias mesófilas	A atividade antibacteriana do OE de sálvia deve-se principalmente ao eucaliptol, α -tujona e cânfora. A aplicação de 0,075 e 0,150 $\mu\text{L/g}$ de segurelha, resultou na estabilidade microbiana do produto. (43,44)

4.4. Peixe

O peixe possui um conjunto de características que o tornam um alimento muito suscetível à deterioração. A oxidação de lípidos é especialmente notada em peixes ricos em ácidos gordos polinsaturados, resultante de uma série de reações autolíticas por hidroperoxidação. A estrutura muscular do peixe também surge como uma desvantagem, favorecendo o crescimento microbiano, entre outros mecanismos de deterioração. (45)

A conservação é fundamental para garantir a qualidade dos produtos derivados do peixe. O gelo tende a ser, em grande parte, a ferramenta utilizada pela atividade piscatória para conservação e atraso da deterioração, o que muitas vezes demonstra ser insuficiente. (45)

A maioria dos compostos bioativos de origem vegetal tem algum efeito na prevenção da oxidação de lípidos, sendo neste contexto os compostos fenólicos os mais utilizados. (45) Mas, tal como noutros alimentos, também no peixe, o elevado teor de gordura, reduz a ação antibacteriana dos OE. (35)

Foram efetuados diversos testes para verificar os mecanismos de ação de compostos de espécies vegetais, na deterioração de alimentos de peixe, que podem ser observados na tabela 8: testes de imersão do alimento, testes de revestimento do gelo com o composto e, testes mistos (onde se efetuaram ambas as técnicas em simultâneo). (45)

Verificou-se que diferentes concentrações de OE conferem diferentes respostas, sendo que o efeito bioativo é mais perceptível em testes com concentrações mais altas. Verificou-se também que os compostos estudados possuíam, maioritariamente, os dois efeitos principais desejados: atividade antimicrobiana e atividade antioxidante, para a prevenção da oxidação dos lípidos. (45)

Tabela 8. Aplicação de alguns compostos de OE como conservantes em produtos à base de peixe e respetivos alimentos e métodos de aplicação testados. Adaptado de (45)

Espécie	Compostos	Método de aplicação	Produto	Armazenamento	Efeito observado
<i>Allium</i> sp.	Compostos fenólicos e flavonoides	Imersão Misto	Filete de peixe fresco	Refrigeração	Antimicrobiano, antioxidante e inibição da formação de voláteis totais
<i>Bifurcaria bifurcata</i>	Polifenóis	Revestimento	Peixe inteiro	Refrigeração	Antimicrobiano e inibição da formação de compostos fluorescentes
<i>Camellia sinensis</i>	Compostos fenólicos	Misto	Hamburger de peixe	Refrigeração	Antioxidante e inibição da formação de voláteis totais
<i>Cinnamomum</i> sp.	Monoterpenóides, compostos fenólicos e flavonoides	Imersão, revestimento e misto	Douradinhos Filetes de peixe Hamburger de peixe	Refrigeração	Antimicrobiano e antioxidante
<i>Citrus</i> sp.	Monoterpenóides e compostos fenólicos	Imersão e revestimento	Filetes de peixe fresco	Refrigeração	Antimicrobiano e antioxidante
<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Compostos fenólicos	Misto	Rissóis de peixe	Refrigeração	Antimicrobiano
<i>Laurus nobilis</i>	Compostos fenólicos	Imersão	Filetes de peixe fresco	Refrigeração	Antimicrobiano e antioxidante
<i>Mentha aquatica</i>	Compostos fenólicos	Imersão	Peixe inteiro	Refrigeração	Antioxidante
<i>Origanum vulgare</i>	Monoterpenóides, fenilpropenóides, compostos fenólicos e polifenóis	Imersão, misto e revestimento	Filetes de peixe fresco Rissóis de peixe	Refrigeração	Antimicrobiano e inibição da formação de voláteis totais

<i>Rosmarinus officinalis</i>	Compostos fenólicos e polifenóis	Misto e imersão	Douradinhos Filetes de peixe fresco Rissóis de peixe	Refrigeração	Antimicrobiano e antioxidante
<i>Salvia officinalis</i>	Compostos fenólicos	Imersão e misto	Douradinhos Filetes de peixe fresco	Refrigeração	Antimicrobiano e antioxidante
<i>Syzygium aromaticum</i>	Compostos fenólicos, fenilpropa-nóides e monoterpe-nóides	Imersão, misto e revestimento	Douradinhos Peixe inteiro Rissóis de peixe	Refrigeração	Antimicrobiano, antioxidante e inibição da formação de voláteis totais
<i>Thymus</i> sp.	Compostos fenólicos, fenilpropa-nóides e monoterpe-nóides	Imersão	Filetes de peixe fresco	Refrigeração	Antimicrobiano e antioxidante
<i>Zataria multiflora</i>	Compostos fenólicos, fenilpropa-nóides e monoterpe-nóides	Revestimento e imersão	Filetes de peixe fresco	Refrigeração	Antioxidante
<i>Zingiber officinale</i>	Compostos fenólicos, monoterpe-nóides e polifenóis	Imersão, revestimento e misto	Filetes de peixe fresco	Refrigeração	Antioxidante e inibição da formação de voláteis totais

4.5. Frutas e Vegetais

As frutas e os legumes são muito suscetíveis à proliferação microbiana, podendo ser contaminados antes da colheita ou após a colheita, principalmente se houver transformação dos mesmos, como o descasque, corte ou embalagem. As principais bactérias patogênicas dos produtos hortícolas associadas a infecções alimentares são a *E. coli*, *C. botulinum*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Staphylococcus* spp., *Vibrio cholerae* e *Y. enterocolitica*. (46)

Nestes alimentos, a diminuição da temperatura de armazenamento, o pH diminuído e o baixo teor de gordura que apresentam, podem beneficiar a atividade antimicrobiana dos OE.(35) Num estudo, o carvacrol e o cinamaldeído mostraram mais eficácia na redução da flora natural em kiwis do que no melão. Esta diferença pode ser explicada pela diferença de pH entre os frutos, que no kiwi é de 3,2 a 3,6 e no melão de 5,4 a 5,5. (35)

Na tabela 9 apresentam-se alguns exemplos da utilização de diferentes OE em alimentos vegetais, bem como os microrganismos envolvidos.

Tabela 9. Aplicação de OE como conservantes em frutas e vegetais e respetivos microrganismos testados.

Produto	OE utilizado	Microrganismos testados	Observações
Alface e espinafres	<i>Allium cepa</i> <i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Salmonella enterica</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	O OE de <i>C. citratus</i> apresentou mais compostos e maior diversidade destes sendo os mais abundantes o geranial e o neral. A combinação dos dois OE mostrou maior atividade antibacteriana em comparação com os OE aplicados individualmente. (47)
Frutos cítricos	<i>Thymus broussonnetii</i> <i>Thymus leptobotrys</i> <i>Thymus riatarum</i> <i>Thymus satureioides</i>	<i>Geotrichum citri-aurantii</i> <i>Penicillium digitatum</i> <i>Penicillium italicum</i>	Os OE são eficazes na conservação pós-colheita de citrinos sobre agentes patogénicos fúngicos. (26)
Frutos secos	<i>Illicium verum</i>	<i>Aspergillus flavus</i>	O OE apresentou atividades antifúngica, anti-aflatoxina e antioxidante nos frutos secos. (26)
Legumes frescos prontos a consumir	<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Thymus vulgaris</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Pseudomonas spp.</i> <i>Salmonella enteritidis</i> <i>Yersinia enterocolitica</i>	Os OE reduziram as culturas bacterianas, tanto isoladamente como em combinação, desde as primeiras 24h até aos 8 dias. A melhor atividade antibacteriana foi obtida sobre <i>E. coli</i> . (48)
Maçã	<i>Origanum vulgare</i>	<i>Botrytis cinerea</i> <i>Penicillium expansum</i>	Concentrações de 1% e 10% de OE de orégãos inibiram o crescimento das espécies fúngicas. (33)

Sumos naturais de maçã, melão e pera	<i>Cinnamomum verum</i> <i>Cymbopogon citratus</i> <i>Cymbopogon martini</i> <i>Eugenia caryophyllata</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Listeria innocua</i> <i>Salmonella enteritidis</i>	O OE de <i>C. martini</i> foi o menos eficaz na inibição do crescimento de <i>E. coli</i> . Já o crescimento de <i>S. enteritidis</i> foi menos eficazmente inibido pelo OE de <i>E. caryophyllata</i> . A maior atividade sobre <i>L. innocua</i> foi nos OE de <i>C. citratus</i> e <i>C. martini</i> . (49)
Vegetais	<i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Thymus vulgaris</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Pseudomonas spp.</i> <i>Salmonella enteritidis</i> <i>Yersinia enterocolitica</i>	Tanto individualmente como em combinação, os OE reduziram as culturas bacterianas nos vegetais. (26)

5. Perspetivas futuras e limitações

Apesar do potencial dos OE como conservantes dos alimentos, existem alguns fatores limitantes na prática da sua utilização, como a sua volatilidade, baixa estabilidade, necessidade de concentrações elevadas para a obtenção de uma atividade antimicrobiana, a interação de alguns dos seus constituintes com certos componentes da matriz alimentar e o aroma intenso que pode afetar negativamente o sabor dos alimentos. A ação antimicrobiana dos constituintes dos OE também é influenciada pelo pH, temperatura e nível de contaminação microbiana. (19,26,50)

Diversas técnicas têm sido desenvolvidas para contornar as limitações do uso direto dos OE como conservante de alimentos. Uma delas é o nanoencapsulamento (figura 7), que consiste num revestimento de material hidrofílico sobre o OE, que é hidrofóbico, ficando este no núcleo da cápsula. Este sistema evita a degradação por fatores externos como a luz e o calor, permite a redução do tamanho das partículas, melhora a eficácia e facilita o manuseamento, permitindo uma libertação controlada. O material de revestimento deve ser um polímero biocompatível e biodegradável como o alginato, o colagénio, o quitosano, a lecitina, maltodextrina, entre outros. (26,50,51)

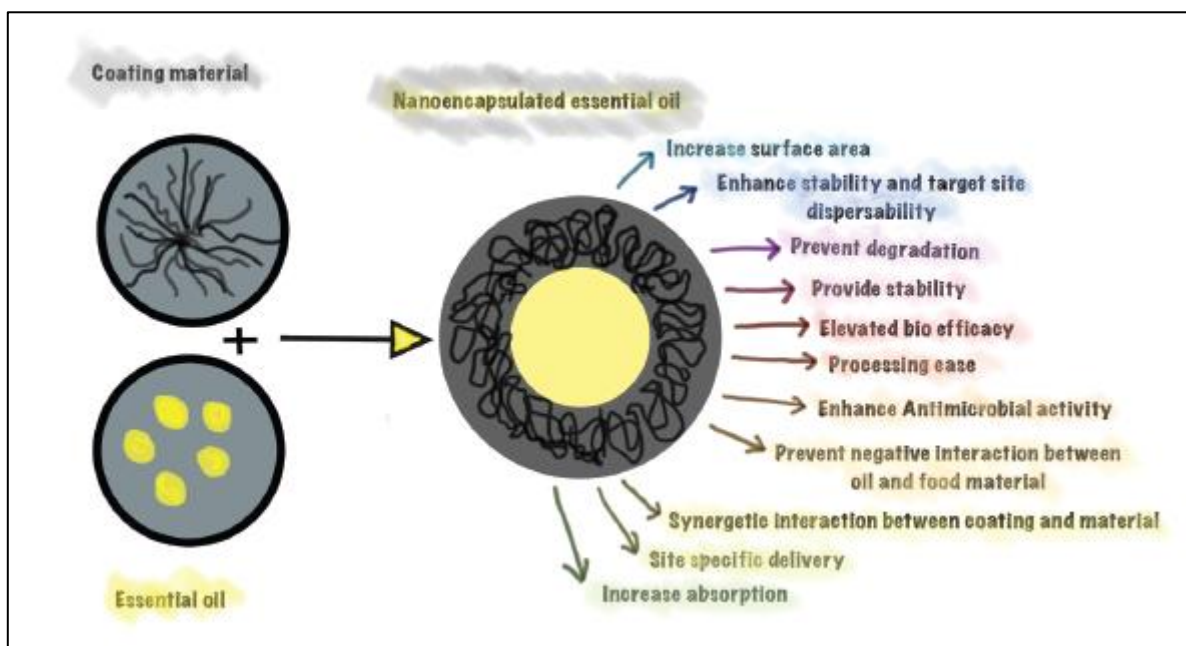


Figura 7. Representação esquemática do nanoencapsulamento de OE e algumas vantagens. De acordo com (51)

O nanoencapsulamento, ao impedir a interação direta do OE com os constituintes dos alimentos, fica disperso uniformemente na matriz alimentar e é libertado localmente, mantendo a concentração do OE num nível adequado para agir sobre os microrganismos e permite também, não alterar as características sensoriais dos alimentos. (51) O OE nanoencapsulado atravessa facilmente a bicamada lipídica das bactérias, exercendo a sua atividade antimicrobiana a partir do interior da célula. (51) As técnicas de nanoencapsulamento englobam a emulsificação, nanoprecipitação, *spray drying*, entre outras. (26)

Outra estratégia para a utilização de OE, é o emprego destes numa embalagem ativa para prolongar o prazo de validade dos alimentos. Aqui, o OE será aplicado no material da embalagem (como polietileno de baixa densidade ou álcool polivinílico). Estas embalagens libertam lentamente o OE, que é volátil, na superfície do alimento, onde geralmente ocorre a contaminação microbiana, proporcionando uma proteção eficaz. A eficácia do OE no sistema de embalagem depende da solubilidade dos componentes lipofílicos na matriz alimentar. (26,51)

A combinação de OE com outros agentes antimicrobianos ou aditivos alimentares, como por exemplo os ácidos orgânicos, também pode ser uma estratégia para a utilização de menores concentrações de OE. (52) Observou-se num estudo, que a combinação de OE de citrinos com diferentes ácidos orgânicos (ácidos cítrico, málico, ascórbico e tartárico), resultou em propriedades antimicrobianas sinérgicas significativas sobre *L. monocytogenes*. Baixas concentrações de OE de citrinos em combinação com os ácidos orgânicos foram eficazes para controlar o crescimento microbiano, permitindo uma redução da concentração de OE em mais de 10 vezes. (52) Também a combinação de timol ou carvacrol com ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA), ácido acético ou ácido cítrico, resultou numa maior redução de culturas de *S. typhimurium*, do que com a utilização de cada um dos compostos isoladamente. (52)

A utilização de combinações de diferentes OE também pode ser uma forma de reduzir a concentração de cada um deles, obtendo um efeito sinérgico das suas propriedades e reduzindo os efeitos negativos na qualidade sensorial. (52,53)

É importante sublinhar que o potencial dos OE como conservantes alimentares pode constituir uma ameaça para a biodiversidade ecológica, causando perdas de plantas aromáticas específicas. Este desafio pode ser evitado através da adoção de uma técnica de cultura de tecidos para obter biomassa industrial da planta desejada. (54)

6. Conclusões

Os OE são metabólitos secundários das plantas que lhes permitem proteção contra invasores como bactérias, fungos e insetos. Entre as suas inúmeras propriedades, demonstram ação contra agentes responsáveis pela deterioração alimentar, destacando-se as suas propriedades antibacteriana, antifúngica e antioxidante que, sendo compostos naturais, seguros e desprovidos de toxicidade, se tornam um potencial na conservação de alimentos.

A composição química dos OE é muito variável, de acordo com fatores como a espécie vegetal, genética, localização, método de extração, entre outros. No geral, os seus constituintes químicos são divididos em dois grupos principais, os terpenos ou terpenóides e os constituintes aromáticos ou fenilpropanóides. Dos seus constituintes mais ativos, destacam-se os compostos fenólicos como o timol e o carvacrol, terpenos que demonstram marcadas atividades antioxidantes, antibacterianas e antifúngicas.

Os OE podem atuar de diversas formas sobre os microrganismos, sendo que a sua natureza lipofílica favorece a interação com os mesmos, permitindo-lhes penetrar/atuar na parede celular e na membrana celular. As bactérias Gram-positivas são geralmente mais sensíveis aos OE do que as Gram-negativas devido às suas diferenças estruturais, mas existem OE que apresentam atividade em ambas.

A eficácia dos OE como conservantes nos diversos grupos de alimentos, tem sido amplamente descrita, no entanto, a sua utilização na indústria alimentar ainda é um desafio, devido à sua natureza volátil, baixa solubilidade, forte aroma e alteração das características organolépticas. A influência do pH, temperatura, estrutura dos alimentos e a interação dos OE com alguns constituintes dos alimentos como gorduras e proteínas, também são fatores a ter em consideração. Para contornar estas limitações, existem estratégias que têm sido desenvolvidas.

O nanoencapsulamento, a embalagem ativa e a utilização de OE em sinergismo com outros agentes antimicrobianos, são exemplos de técnicas promissoras para que se possa usufruir do potencial destes compostos em sistemas alimentares, sem comprometer as suas qualidades nutricionais e a sua segurança. Os conservantes de origem natural irão ao encontro das expectativas dos consumidores, que cada vez mais procuram alternativas saudáveis e ecológicas.

7. Referências Bibliográficas

1. Ali B, Al-Wabel NA, Shams S, Ahamad A, Khan SA, Anwar F. Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. *Asian Pac J Trop Biomed* [Internet]. 2015;5(8):601–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.05.007>
2. Dhifi W, Bellili S, Jazi S, Bahloul N, Mnif W. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines*. 2016;3(4):25.
3. Mutlu-Ingok A, Devecioglu D, Dikmetas DN, Karbancioglu-Guler F, Capanoglu E. Antibacterial, antifungal, antimycotoxigenic, and antioxidant activities of essential oils: an updated review. *Molecules*. 2020;25(20).
4. Cunha AP, Roque OR. Aromaterapia: fundamentos e utilização. Fundação Calouste Gulbenkian; 2013. 37–41 p.
5. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils - A review. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(2):446–75.
6. Nieto G. Biological Activities of Three Essential Oils of the Lamiaceae Family. *Medicines*. 2017;4(3):63.
7. Dima C, Dima S. Essential oils in foods: Extraction, stabilization, and toxicity. *Curr Opin Food Sci* [Internet]. 2015;5:29–35. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2015.07.003>
8. Moreira I, Teixeira G, Monteiro A. Anatomia das Plantas: Estruturas Secretoras. 2010 Isa P. Lisboa: ISA Press; 2010.
9. World Health Organization. Folium Ginkgo. WHO Monogr Sel Med plants. 1999;1:154–67.
10. Figueiredo C, Pedro L, Barroso J. Plantas aromáticas e medicinais - Óleos essenciais e Voláteis. *Aph* N°114 [Internet]. 2015;29–33. Available from: http://cbv.fc.ul.pt/2014_Revista_da_APH_114_20_PAM.pdf
11. Stratakos AC, Koidis A. Methods for Extracting Essential Oils [Internet]. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier Inc.; 2015. 31–38 p. Available from:

<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00004-3>

12. Asbahani A El, Miladi K, Badri W, Sala M, Addi EHA, Casabianca H, et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. *Int J Pharm* [Internet]. 2015;483(1–2):220–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>
13. Reyes-Jurado F, Franco-Vega A, Ramírez-Corona N, Palou E, López-Malo A. Essential Oils: Antimicrobial Activities, Extraction Methods, and Their Modeling. *Food Eng Rev*. 2015;7(3):275–97.
14. Profile SEE, Profile SEE. LEVANTAMENTO E ANÁLISE DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEOS. 2012;(July 2017).
15. Raut JS, Karuppayil SM. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Ind Crops Prod*. 2014;62:250–64.
16. Ribeiro-Santos R, Andrade M, Sanches-Silva A, de Melo NR. Essential Oils for Food Application: Natural Substances with Established Biological Activities. *Food Bioprocess Technol*. 2018;11(1):43–71.
17. Tongnuanchan P, Benjakul S. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *J Food Sci*. 2014;79(7):1–19.
18. Berger RG. *Flavours and Fragrances*. Springer Berlin, Heidelberg; 2007. 648 p.
19. Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL. Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front Microbiol*. 2012;3(JAN).
20. Habtemariam S. Introduction to plant secondary metabolites—From biosynthesis to chemistry and antidiabetic action. *Med Foods as Potential Ther Type-2 Diabetes Assoc Dis*. 2019;109–32.
21. Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*. 2013;6(12):1451–74.
22. Tariq Saika, Wani Saira, Rasool Waseem, Bhat Muzzaffar Ahmad, Prabhakar Anil, Shalla Aabid Hussain RMA. A Comprehensive review of the antibacterial, antifungal and antiviral potential of essential oils and their chemical constituents against drug-resistant microbial pathogens. *Microb Pathog*. 2019;
23. Tiwari BK, Valdramidis VP, O'Donnell CP, Muthukumarappan K, Bourke P, Cullen PJ.

- Application of natural antimicrobials for food preservation. *J Agric Food Chem.* 2009;57(14):5987–6000.
24. Bassolé IHN, Juliani HR. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules.* 2012;17(4):3989–4006.
 25. Pandey AK, Kumar P, Singh P, Tripathi NN, Bajpai VK. Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives. *Front Microbiol.* 2017;7(JAN):1–14.
 26. Maurya A, Prasad J, Das S, Dwivedy AK. Essential Oils and Their Application in Food Safety. *Front Sustain Food Syst.* 2021;5(May).
 27. Sharifi-Rad J, Sureda A, Tenore GC, Daglia M, Sharifi-Rad M, Valussi M, et al. Biological activities of essential oils: From plant chemoeology to traditional healing systems. Vol. 22, *Molecules.* 2017.
 28. Amorati R, Foti MC, Valgimigli L. Antioxidant activity of essential oils. *J Agric Food Chem.* 2013;61(46):10835–47.
 29. Edris AE. Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A Review. *Wiley InterSci.* 2007;21(January):308–23.
 30. Nazzaro F, Fratianni F, Coppola R, De Feo V. Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals.* 2017;10(4):1–20.
 31. Do Nascimento LD, de Moraes AAB, da Costa KS, Galúcio JMP, Taube PS, Costa CML, et al. Bioactive natural compounds and antioxidant activity of essential oils from spice plants: New findings and potential applications. *Biomolecules.* 2020;10(7):1–37.
 32. Miguel MG. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules.* 2010;15(12):9252–87.
 33. Rodriguez-Garcia I, Silva-Espinoza BA, Ortega-Ramirez LA, Leyva JM, Siddiqui MW, Cruz-Valenzuela MR, et al. Oregano Essential Oil as an Antimicrobial and Antioxidant Additive in Food Products. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2016;56(10):1717–27.
 34. Yousefi M, Khorshidian N, Hosseini H. Potential Application of Essential Oils for Mitigation of *Listeria monocytogenes* in Meat and Poultry Products. *Front Nutr.* 2020;7(November).
 35. Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods -

- A review. *Int J Food Microbiol.* 2004;94(3):223–53.
36. Perricone M, Arace E, Corbo MR, Sinigaglia M, Bevilacqua A. Bioactivity of essential oils: A review on their interaction with food components. *Front Microbiol.* 2015;6(FEB):1–7.
 37. Gavahian M, Chu YH, Lorenzo JM, Mousavi Khaneghah A, Barba FJ. Essential oils as natural preservatives for bakery products: Understanding the mechanisms of action, recent findings, and applications. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2020;60(2):310–21. Available from: <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1525601>
 38. Guynot ME, Ramos AJ, Setó L, Purroy P, Sanchis V, Marín S. Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products. *J Appl Microbiol.* 2003;94(5):893–9.
 39. Ben Jemaa M, Falleh H, Neves MA, Isoda H, Nakajima M, Ksouri R. Quality preservation of deliberately contaminated milk using thyme free and nanoemulsified essential oils. *Food Chem* [Internet]. 2017;217:726–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.030>
 40. Khorshidian N, Yousefi M, Khanniri E, Mortazavian AM. Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese. *Innov Food Sci Emerg Technol* [Internet]. 2018;45:62–72. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.020>
 41. Mishra AP, Devkota HP, Nigam M, Adetunji CO, Srivastava N, Saklani S, et al. Combination of essential oils in dairy products: A review of their functions and potential benefits. *Lwt* [Internet]. 2020;133(August):110116. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110116>
 42. Ozkan G, Simsek B, Kuleasan H. Antioxidant activities of *Satureja cilicica* essential oil in butter and in vitro. *J Food Eng.* 2007;79(4):1391–6.
 43. Pateiro M, Munekata PES, Sant’Ana AS, Domínguez R, Rodríguez-Lázaro D, Lorenzo JM. Application of essential oils as antimicrobial agents against spoilage and pathogenic microorganisms in meat products. *Int J Food Microbiol* [Internet]. 2021;337:108966. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108966>
 44. Ji J, Shankar S, Royon F, Salmieri S, Lacroix M. Essential oils as natural antimicrobials applied in meat and meat products—a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet].

- 2023;63(8):993–1009. Available from: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1957766>
45. Presenza L, Ferraz Teixeira B, Antunes Galvão J, Maria Ferreira de Souza Vieira T. Technological strategies for the use of plant-derived compounds in the preservation of fish products. *Food Chem.* 2023;419(December 2022).
 46. György É, Laslo É, Kuzman IH, Dezső András C. The effect of essential oils and their combinations on bacteria from the surface of fresh vegetables. *Food Sci Nutr.* 2020;8(10):5601–11.
 47. Ortega-Ramirez LA, Silva-Espinoza BA, Vargas-Arispuro I, Gonzalez-Aguilar GA, Cruz-Valenzuela MR, Nazzaro F, et al. Combination of cymbopogon citrates and *Allium cepa* essential oils increased antibacterial activity in leafy vegetables. *J Sci Food Agric.* 2016;97(7):2166–73.
 48. Iseppi R, Sabia C, de Niederhäusern S, Pellati F, Benvenuti S, Tardugno R, et al. Antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. and *Thymus vulgaris* L. essential oils and their combination against food-borne pathogens and spoilage bacteria in ready-to-eat vegetables. *Nat Prod Res [Internet].* 2019;33(24):3568–72. Available from: <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1482894>
 49. Raybaudi-Massilia RM, Mosqueda-Melgar J, Martín-Belloso O. Antimicrobial activity of essential oils on *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, and *Listeria innocua* in fruit juices. *J Food Prot.* 2006;69(7):1579–86.
 50. Radünz M, dos Santos Hackbart HC, Camargo TM, Nunes CFP, de Barros FAP, Dal Magro J, et al. Antimicrobial potential of spray drying encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil on the conservation of hamburger-like meat products. *Int J Food Microbiol [Internet].* 2020;330(May):108696. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108696>
 51. Saeed K, Pasha I, Jahangir Chughtai MF, Ali Z, Bukhari H, Zuhair M. Application of essential oils in food industry: challenges and innovation. *J Essent Oil Res [Internet].* 2022;34(2):97–110. Available from: <https://doi.org/10.1080/10412905.2022.2029776>
 52. Calo JR, Crandall PG, O'Bryan CA, Ricke SC. Essential oils as antimicrobials in food systems - A review. *Food Control [Internet].* 2015;54:111–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.12.040>

53. Bugli F, Di Vito M, Isabel Santos MS, Marques C, Mota J, Pedroso L, et al. Applications of Essential Oils as Antibacterial Agents. 2022;1–24. Available from: <https://doi.org/10.3390/microorganisms>
54. Falleh H, Ben Jemaa M, Saada M, Ksouri R. Essential oils: A promising eco-friendly food preservative. Food Chem [Internet]. 2020;330:127268. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127268>