

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOEXPERIMENTAÇÃO**

**EFEITO INIBITÓRIO DE ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA
Staphylococcus aureus MULTIRRESISTENTES E FORMADORES DE
BIOFILMES**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Maisa Cristina Benincá

**Passo Fundo, RS, Brasil
2018**

**EFEITO INIBITÓRIO DE ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA *Staphylococcus aureus*
MULTIRRESISTENTES E FORMADORES DE BIOFILMES**

Maisa Cristina Benincá

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Área de Concentração em Higiene, inspeção, microbiologia e composição química de alimentos, da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo (UPF), como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Bioexperimentação**

Orientadora: Profa. Dra. Laura Beatriz Rodrigues

**Passo Fundo, RS, Brasil
2018**

CIP – Catalogação na Publicação

B467e Benincá, Maisa Cristina

Efeito inibitório de óleos essenciais contra
Staphylococcus aureus multirresistentes e
formadores de biofilmes / Maisa Cristina Benincá.
– 2018.
[83] f.: il. ; 30 cm.

Orientadora: Profa. Dra. Laura Beatriz Rodrigues.
Dissertação (Mestrado em Bioexperimentação)
– Universidade de Passo Fundo, 2018.

1. Tecnologia de alimentos. 2. *Staphylococcus aureus*. 3. Alimentos – Contaminação microbiana.
3. Óleos essenciais – Agentes antimicrobianos. I. Rodrigues, Laura Beatriz, orientadora. II. Título.

CDU: 664

Catalogação: Bibliotecária Juliana Langaro Silveira - CRB 10/2427

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE MESTRADO EM BIOEXPERIMENTAÇÃO**

A comissão examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**EFEITO INIBITÓRIO DE ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA *Staphylococcus aureus*
MULTIRRESISTENTES E FORMADORES DE BIOFILMES**

Elaborada por
Maisa Cristina Benincá

Como requisito parcial para a obtenção do grau de
Mestre em Bioexperimentação

Comissão Examinadora

**Laura Beatriz Rodrigues, Dra. UPF
(Orientadora/ Presidente)**

Luciana Ruschel dos Santos, Dra. UPF

Giseli Aparecida Ritterbusch, Dra UPF

**Passo Fundo, RS, Brasil
2018**

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pela força para alcançar mais esta etapa da minha vida.

Aos meus pais, Osmar José Benincá e Margarida Maria Mattia Benincá, pelo amor, carinho e apoio durante toda a minha formação.

Ao meu irmão, Henrique Augusto Benincá, minha cunhada Priscila De Paula, e toda minha família pelo carinho e amizade.

À minha orientadora, Doutora Laura Beatriz Rodrigues, pela paciência, amizade, pela agradável orientação, e aos ensinamentos profissionais e pessoais que serão levados para toda a minha vida. Agradeço por ter me escolhido como orientada.

À Professora Doutora Luciana Ruschel dos Santos, pela confiança em mim depositada.

Agradeço a todos os mestres do Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação por auxiliaram no meu crescimento e conhecimento.

Desejo igualmente agradecer minhas colegas de mestrado, Suelen P. Santos, Caroline Peixoto, cujo apoio e amizade estiveram presentes em todos os momentos, mas, principalmente, à Bruna Webber, pela colaboração na condução do experimento.

A todos os funcionários do Laboratório de Bacteriologia do Hospital Veterinário, e aos bolsistas de iniciação científica, pela cumplicidade, alegria e auxílio.

Enfim, a todas as pessoas que contribuíram, diretamente ou indiretamente, para a realização deste projeto.

Gratidão!

EPIGRAFE

“Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação, conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho.”

Dalai Lama

ÍNDICE

LISTA DE FIGURA	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	14
2.2 FORMAÇÃO DE BIOFILMES	14
2.3 RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS	15
2.4 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS	17
2.5 ÓLEO ESSENCIAL	18
2.5.1 <i>Thymus vulgaris Linn</i>	19
2.5.2 <i>Origanum vulgare</i>	19
2.5.3 <i>Eugenia caryophyllata</i>	20
2.5.4 <i>Zingiberaceae officinale Roscoe</i>	20
2.5.5 <i>Cinnamomum cassia</i>	21
3. CAPÍTULO 1	22
INTRODUÇÃO	23
MATERIAIS E MÉTODOS	24
RESULTADOS E DISCUSSÕES	27
CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	33
4. CONCLUSÃO	35
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	36
6. REFERÊNCIAS	37
APÊNDICE A	43

LISTA DE FIGURA**4. CAPÍTULO 1**

FIGURA 1. Média dos halos de inibição (mm) da ação do óleos essencias frente a 27
isolados de *Staphylococcus aureus*

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Perfil dos isolados de <i>Staphylococcus aureus</i> utilizados quanto à formação de biofilmes, fatores de virulência e perfil de resistência a antimicrobianos	24
TABELA 2	Valores médios de halos de inibição (mm) formados pela ação dos OEs de <i>Zingiber officinale Roscoe</i> , <i>Origanum vulgare</i> , <i>Cinnamomum cassia</i> , <i>Eugenia caryophyllus</i> e <i>Thymus vulgaris</i>	28

LISTA DE ABREVIATURAS

CBM	Concentração bactericida mínima
DMSO	Dimetil sulfóxido
DTAs	Doenças transmitidas por alimentos
FDA	Food and Drug Administration
MIC	Consenção inibitória mínima
OE	Óleo essencial
OEs	Óleos essenciais

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação
Universidade de Passo Fundo

EFEITO INIBITÓRIO DE ÓLEOS ESSENCIAIS CONTRA *Staphylococcus aureus*
MULTIRRESISTENTES E FORMADORES DE BIOFILMES

Autora: Maisa Cristina Benincá

Orientadora: Laura Beatriz Rodrigues

Passo Fundo, 27 de Julho de 2018

Staphylococcus aureus é um dos principais patógenos responsáveis pelas doenças transmitidas por alimentos, sendo um problema de saúde pública tanto nas indústrias quanto em residências. Muitos surtos são causados pela falta de informação sobre boas práticas de manipulação e conservação dos alimentos, sendo uma das principais vias de contaminação o contato direto das mãos dos manipuladores com os produtos. As indústrias vêm utilizando aditivos químicos para evitar o crescimento microbiano e aumentar a vida útil dos produtos. Entretanto, os microrganismos vêm ganhando resistência pelo uso exacerbado de antimicrobianos e aditivos. Além disso, os consumidores estão procurando alternativas seguras e naturais para sua alimentação. Os óleos essenciais (OEs) de plantas estão sendo muito usados na preservação de alimentos crus e processados, e como produtos farmacêuticos no tratamento de doenças infecciosas pela medicina alternativa e natural. O uso dos OEs é uma alternativa no controle de bactérias patogênicas, pois pode apresentar ação bactericida. Neste trabalho avaliou-se o efeito inibitório *in vitro* dos óleos essenciais de *Origanum compactum* (orégano), *Cinnamomum cassia* (canela), *Eugenia caryophyllus* (cravo), *Thymus vulgaris* L. (tomilho) e *Zingiber officinale* Roscoe (gengibre), em ágar difusão, frente a isolados de *Staphylococcus aureus*. Os OEs de orégano e tomilho apresentaram melhor ação, com os maiores halos de inibição ($p < 0,05$). Desta forma, os óleos de *Origanum vulgare* e *Thymus vulgaris* L. foram selecionados para avaliar a concentração inibitória mínima (MIC) e a concentração bactericida mínima (CBM) sobre cinco isolados de *S. aureus*, considerados suscetíveis no teste de ágar difusão. Em ambos os testes, os dois OEs apresentaram a MIC e a CBM de 7,8 mg/mL (diluição 1:128), para todos os isolados. Com este estudo verificou-se que os óleos essenciais possuem efeito inibitório sobre *S. aureus*, sendo uma alternativa de aditivo natural no controle microbiológico a ser utilizado na tecnologia de alimentos.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, óleo essencial, concentração bactericida mínima, concentração inibitória mínima, aditivo natural, tecnologia de alimentos.

ABSTRACT

Master's Dissertation
Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação
Universidade de Passo Fundo

INEQUAL EFFECT OF ESSENTIAL OILS AGAINST *Staphylococcus aureus*
MULTIRRESISTENTS AND BIOFILM FORMERS

Author: Maisa Cristina Benincá
Advisor: Laura Beatriz Rodrigues
Passo Fundo, July 27, 2018

Staphylococcus aureus is one of the major pathogens responsible for foodborne diseases and is a public health problem in both industries and households. Many outbreaks are caused by a lack of information on good food handling and conservation practices, with direct contact between handlers and products being one of the main routes of contamination. Industries have been using chemical additives to prevent microbial growth and increase product shelf life. However, microorganisms have been gaining resistance due to the exacerbated use of antimicrobials and additives. In addition, consumers are looking for safe, natural alternatives to their diet. Essential oils (OEs) of plants are being used extensively in the preservation of raw and processed foods, and as pharmaceuticals in the treatment of infectious diseases by alternative and natural medicine. The use of OEs is an alternative in the control of pathogenic bacteria, as it may present bactericidal action. In this work the in vitro inhibitory effect of the essential oils of *Origanum compactum* (Oregano), *Cinnamomum cassia* (cinnamon), *Eugenia caryophyllus* (clove), *Thymus vulgaris* L. (thyme) and *Zingiber officinale* Roscoe (ginger), compared to isolates of *Staphylococcus aureus*. The OEs of oregano and thyme presented better action, with the greater inhibition halos ($p < 0.05$). In this way, the oils of *Origanum vulgare* and *Thymus vulgaris* L. were selected to evaluate the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) on five *S. aureus* isolates, considered susceptible in the agar diffusion test. In both tests, the two OEs showed MIC and MBC of 7,8 mg / mL (1: 128 dilution) for all isolates. With this study it was verified that the essential oils have an inhibitory effect on *S. aureus*, being an alternative of natural additive in the microbiological control to be used in food technology.

Key words: *Staphylococcus aureus*, essential oil, minimal bactericidal concentration, minimal inhibitory concentration, natural additive, food technology.

1. INTRODUÇÃO

Falhas no processo de preparação ou acondicionamento dos alimentos acarretam contaminações microbiológicas gerando um grande problema para a saúde pública. As doenças transmitidas por alimentos (DTAs), que são causadas por microrganismos patogênicos estão gerando grande preocupação para as indústrias pois estão impactando na qualidade e inocuidade dos produtos. Cerca de 45% dos casos de intoxicação de origem alimentar são relacionados com *Staphylococcus aureus* (1-5).

A resistência aos antimicrobianos e as doenças transmitidas por alimentos são questões internacionais de saúde, sendo que o uso exagerado de antibióticos pode gerar uma seleção de microrganismos resistentes, havendo a necessidade de buscar alternativas como o uso de produtos naturais com compostos bioativos (6-8).

O uso dos produtos naturais é uma maneira alternativa de controlar a presença de bactérias patogênicas, pois os componentes do óleo essencial contêm propriedade antimicrobiana (9;10).

A essência dos óleos tem uma aceitabilidade positiva nas indústrias de alimentos devido às diferentes possibilidades de aplicação nos produtos. Os óleos essenciais mostram atividade antimicrobiana promissora contra microrganismos patogênicos transmitidos pelos alimentos e bactérias deterioradoras (11).

Cada vez mais a população está preocupada com a saúde, procurando alternativas seguras e uma alimentação mais natural. Os aditivos químicos sintéticos estão gerando procuração para os consumidores. As indústrias de alimentos estão procurando alternativas naturais para substituir estes compostos.

Deste modo, este trabalho tem a finalidade de avaliar o efeito *in vitro* de óleos essenciais de canela, cravo, tomilho, gengibre e orégano no crescimento de *Staphylococcus aureus*. A presente dissertação é composta por esta introdução, uma breve revisão de literatura de *Staphylococcus aureus*, formação de biofilmes, resistência a antimicrobianos, doenças transmitidas por alimentos, óleos essenciais e por um trabalho científico incluído no Capítulo 1, denominado “**Óleos essenciais de *origanum vulgare* e *thymus vulgaris* l. são bactericidas contra *Staphylococcus aureus* multirresistentes e formadores de biofilmes**”.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Staphylococcus aureus são bactérias do gênero *Staphylococcus*, pertence à família *Micrococcaceae*, apresentam diâmetro de aproximadamente 0,5 a 1,5 μm , são móveis e não esporulam. As cepas crescem em meios com pH próximo de 7 com temperatura média de 37°C. São bactérias Gram positivas, catalase positiva, com formato esférico, adaptáveis em diferentes ambientes. Podem ser encontradas em diversos locais e sua transmissão se dá pelo contato interpessoal direto ou por objetos contaminados (12;13;4).

Capazes de secretar enzimas e citotoxinas relacionadas a hemólises, nucleases, proteases, lipases, hialuronidase e colagenase, apresenta função de converter tecidos em nutrientes para o crescimento bacteriano (14).

Tendo a capacidade de crescer e produzir toxinas em condições ambientais variadas, alguns alimentos podem estar envolvidos por intoxicação alimentar estafilocócicas como produtos à base de carnes, ovos, leite e derivados. As vias nasais e mãos dos seres humanos são os principais veículos na transmissão desta bactéria (15).

Os primeiros sintomas aparecem após 30 minutos da ingestão de um alimento contaminado, com rápido efeito sendo descritos por náuseas e vômitos, outros sintomas incluem, dor abdominal, diarreia, tonturas, tremores e fraqueza geral às vezes febre moderada. Em casos de alta gravidade é relatado dor de cabeça, prostração e baixa pressão arterial (16).

As bactérias podem apresentar dois tipos de resistência: intrínseca e adquirida. A intrínseca é quando uma espécie é resistente a um determinado antimicrobiano mesmo antes do seu uso, e a adquirida ocorre quando um microrganismo continua a persistir na presença de determinado agente antimicrobiano ao qual anteriormente ele já foi sensível (17;18).

2.2 FORMAÇÃO DE BIOFILMES

A existência de microrganismos aderidos foi apresentada pelo cientista holandês Antonie van Leeuwenhoek. No século 17 observou em seus próprios dentes animáculos aderidos, sendo a primeira visualização do que hoje é considerado o biofilme. Em 1943, Zobell afirmou que “a água do mar circundante tem menos número de bactérias livres, chamadas planctônicas, do que aderidas em superfícies, as chamadas células sesséis”. Entre 1960 a 1970, não houve investigação das propriedades químicas e físicas dos biofilmes (19).

Em 1978 Costerton empregou técnicas de microscopia mais sofisticadas e efetivas ao qual observou que a maioria dos microrganismos nos ambientes naturais se localizava fixo a suportes, e não na forma livre, sendo chamado de biofilme às células microbianas aderidas (20).

Bactérias estão presentes em todos ambientes, naturais ou artificiais, superfícies bióticas e abióticas, e são formadores de biofilmes mono ou multiespécie, ou seja, formados por mais de um tipo de microrganismo, podendo levar a uma contaminação ou infecção. As células sessais do biofilme são mais resistentes aos procedimentos de saneamento e consequentemente a ação do sistema inute do hospedeiro ou agente antimicrobiano (20) relatam que estas células são de quinhentas a mil vezes mais resistentes que as células planctônicas. Nas indústrias de alimentos, os biofilmes implicam na contaminação de produtos alimentícios, podendo gerar danos em equipamentos, principalmente em indústria de produtos lácteos (21;22).

Biofilmes são uma comunidade de bactérias que produzem uma matriz de substancia polimérica extracelular (EPS), aderente a superfícies bióticas ou abióticas, formando uma estrutura resistente a ação de agentes externos (20). É uma matriz composta de polissacarídeos, proteínas, DNAs, lipídios entre outras macromoléculas.

Para que ocorra a formação do biofilme, há muitas etapas, sendo elas: o contato inicial / anexo à superfície, seguido da formação de micro colônias aderidas, maturação e formação da arquitetura do biofilme, e por fim o desprendimento / dispersão do biofilme (19).

As comunidades microbianas presentes dentro do biofilme geram diferentes enzimas que ajudam na maturação e consequentemente na liberação de fragmentos para a superfície, com isso podem colonizar outras áreas da indústria, sendo um ponto de contaminação constante (23).

As bactérias que formam biofilme são responsáveis por causar aproximadamente 2/3 das infecções em humanos e são mais resistentes a antimicrobiano pois adaptam-se geneticamente ou metabolicamente na superfície. A resistência a antibióticos é um problema global que desafia a saúde pública nos países desenvolvidos e subdesenvolvidos, as bactérias multirresistentes são ainda um problema não resolvido (24).

2.3 RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS

O primeiro antibiótico de atividade clínica foi descoberto no século 20 quando Alexander Fleming estudava culturas de *Staphylococcus aureus* e descobriu a penicilina.

Uma importante conquista na medicina, já que esta droga é importante para uso em procedimentos hospitalares, como, cirurgias, transplantes, diálises e quimioterapias. Esse antimicrobiano tem a capacidade de tratar infecções e melhorar a vida dos pacientes, com isso foi usado em larga escala em todo o mundo.

Frente a isso, apenas oito anos após o início do uso da penicilina 68% dos casos tratados já apresentavam resistência a esse antibiótico. Com o passar dos anos os microrganismos desenvolveram resistência, trazendo preocupação para a saúde pública e também em questões ecológicas (25-27).

As cepas de *Staphylococcus aureus* que no passado eram sensíveis, estão cada vez mais resistentes a este antibiótico, causando preocupação para a saúde pública. De acordo com o Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças, 25 mil pacientes vão a óbito por consequência de infecções multirresistentes (28).

O uso indiscriminado de antibióticos leva ao surgimento, multiplicação e disseminação das cepas resistentes. As cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes são conhecidas como, MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) glicoptidos-resistente *S. aureus*, com grande espectro β -lactamase e coliformes produtoras de carbapenemase, podendo disseminar dentro de hospitais ou comunidades (29;30).

A mutação espontânea no cromossomo bacteriano, pode gerar resistência a antibióticos, sendo um processo raro, pois as bactérias já produzem antibióticos para sua própria proteção, como as bacteriocinas. Já a resistência adquirida ocorre pela transferência horizontal de genes, feita por elementos genéticos móveis, como transferência de plasmídeo por meio da conjugação, transdução e transformação, que conferem vantagens levando a mecanismos de resistência pela bactéria (31). Os principais mecanismos de resistência em bactérias são: alteração da permeabilidade, modificação do sitio de ação, bombas de efluxo, formação de biofilme, mecanismos enzimáticos e inativação de antibióticos (31;17).

Com o avanço da tecnologia, metodologias como o PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), sequenciamento e metagenômica, estão sendo usados para fornecer importantes informações sobre os genes de resistência a antibióticos presentes nos microrganismos (32). Além disso é necessário estudar mecanismos que impeçam a comunicação entre as bactérias, bem como a descoberta de novos compostos antimicrobianos, já que estamos há quase 30 anos sem descobrir nenhum novo composto e a busca por alternativas naturais ao uso de antimicrobianos, como é o caso dos óleos essenciais.

2.4 DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

A contaminação por bactérias patogênicas em indústrias alimentícias pode resultar em doenças transmitidas por alimentos, gerando grande preocupação para que não ocorra nenhum tipo de contaminação. Frente a isso são inúmeras as medidas tomadas para minimizar esses perigos (risco), como o uso de produtos químicos para controlar o processo de deterioração e contaminação pelas bactérias. Além disso estes produtos usados em altas concentrações podem apresentar efeitos indesejáveis ao longo dos anos, como carcinogenicidade, teratogenicidade e toxicidade (33).

Ao passar dos anos, foram desenvolvidas normas e regras a serem aplicadas nas indústrias, como a Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle que tem a finalidade de garantir a segurança de alimentos, para que não ocorra a contaminação por patógenos em todas etapas do processo de fabricação. Muitos surtos de doenças alimentares são causados pela falta de informação sobre as boas práticas de manipulação e conservação no momento do preparo das refeições em restaurantes, cantinas e até mesmo em residências (34).

No ano de 2018 foram registrados, no Brasil, 12.619 surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs), com 46.524 pessoas que adoeceram, 9 foram a óbito. Com relação às notificações, 38,3% dos surtos ocorreram na região Sudeste, 35,1% na região Sul, 15,8% na região Nordeste, 4,9% na região Norte e 6% no Centro Oeste (35).

Staphylococcus aureus é terceiro agente bacteriana, considerado mais importante transmissor de doenças em alimentos em todo o mundo, sua intoxicação se dá pela ingestão de enterotoxinas pré formadoras de cepas enterotoxigênicas em alimentos, alguns estudos mostram que a bactéria é tolerante ao calor, pH, ácidos e sais (19;26).

O período de desenvolvimento e a gravidade dos sintomas dependem da quantidade ingerida de enterotoxinas e a imunidade de cada pessoa, os sintomas surgem 30 min após a ingestão do alimento contaminado, alguns sintomas são de rápido efeito e descritos por náuseas, vômitos, dor abdominal, diarreia, tonturas, tremores e fraqueza geralmente às vezes febre moderada. Nos casos de alta gravidade é relatado dor de cabeça, prostração e baixa pressão arterial, a recuperação varia de 24 a 48 horas (16).

As intoxicações alimentares são causadas por micro-organismos patogênicos presentes nos alimentos, já a deterioração é causada por microrganismos deteriorantes, e para isso pode se utilizar conservantes sintéticos que tem a finalidade de controlar o crescimento bacteriano e aumentar o tempo de prateleira (3;5).

A Organização Mundial da Saúde define como doenças transmitidas por alimentos, a ingestão de alimentos ou água contaminadas. A contaminação por alimentos ocorre em qualquer parte do período de produção sendo transmitida por bactérias, vírus, parasitar ou toxinas, podendo apresentar como sintomas, náuseas, vômito ou diarreia. (37).

2.5 ÓLEOS ESSENCIAIS

O óleo essencial pode ser extraído de toda a estrutura das plantas, como sementes, raízes, caules, galhos, folhas, flores, frutas, madeira e casca. São compostos voláteis, com baixo peso molecular, seu aspecto é oleoso, além de ser pouco solúvel em água (4;38).

São produtos derivados de plantas aromáticas contendo aproximadamente 20 a 60 componentes em diferentes graus de concentrações. São metabolitos secundários voláteis, naturais e quimicamente complexos, estão presentes em temperos, compostos aromáticos e alifáticos. Antigamente eram aplicados para tratar doenças, conseqüentemente prevenindo a saúde. Nos últimos anos vem sendo usado como medicamento, já que possuem ação antimicrobiana e antifúngica, usados como aditivos alimentares e no aroma terapia (39).

A composição química do óleo essencial apresenta dois compostos majoritários, sendo eles os terpenicos e fenilpropanoides. Os compostos terpenicos são hidrocarbonetos com múltiplos carbonos e sua volatilidade depende do tamanho da cadeia carbônica. Os fenilpropanoides, tem a sua característica molecular o anel fenila ligado a átomos de carbono (40).

Sua atividade antimicrobiana é promissora para o sistema de conservação de alimentos, com a aplicação em produtos lácteos, sendo que muitos são considerados seguros em doses específicas pela Food and Drug Administration (FDA), para uso em alimentos e bebida (41).

A atividade antimicrobiana que os óleos essenciais têm depende da dose aplicada, tipo da planta, tipo do microrganismo, composições químicas dos óleos essenciais, capacidade antioxidante e teor de substância fenólica (42).

As especiarias apresentam muitas propriedades medicinais, tendo alta atividade antioxidante, anti-inflamatória e antibacteriana. Usado em áreas nutricionais, farmacêuticas e agrícolas, apresentam bons resultados. São amplamente usada em alimentos, com associação a outros compostos fitoterápicos, para ter efeito sinérgico (43).

Usado em alimentos processados e produto prontos para o consumo, as especiarias têm a finalidade de dar sabor e aroma aos alimentos. O elevado consumo é devido a diversidade de sabores naturais e corantes presentes na natureza (44).

O óleo essencial pode inibir o crescimento de microrganismos patógenos ou deteriorantes, sendo uma alternativa para a conservação de alimentos, aumentando a vida e prateleira do produto.

2.5.1 *Thymus vulgaris* Linn

O tomilho (*Thymus vulgaris* Linn) pertence à família *Lamiaceae*, nativa da região do mediterrâneo ocidental, classificado como hortaliça sendo utilizado antigamente para fins medicinais. As folhas e flores fazem parte da extração do óleo, os constituintes principais são timol, terpineno, cinemo, carvacrol e linalol (45;46).

Sua composição apresenta 12-61% de timol, 0,4- 20,6% de carvacrol, 0,2- 14,2% de 1,8 cineol, 9,1-22,2% de α -cimeno, 2,2-4,8% de linalol, 0,6-7,5% de borneol, 0,9- 6,6% de α -pineno e 0-7,3% de cânfora (47).

Cresce em muitas partes do mundo, sendo bastante usado na medicina popular com propriedade expectorante, antitússico, antibroncolíticas, antiespasmódicas, anti-helmínticas e diuréticas, usadas como erva em culinária e fonte de agente aromatizante (48).

Apresentando 150 gêneros e 2.800 espécies distribuídas por todo o mundo, no Brasil a introdução da planta é para fins medicinais, usados para condimentos e flores ornamentais. O óleo essencial de tomilho possui atividade antifúngica e antibacteriano (49)

2.5.2 *Origanum vulgare*

O orégano pertence à família *Lamiaceae*, apresenta mais de 38 espécies de ervas anuais, perenes e arbustivas, da região do Mediterrâneo, Europa, Ásia e África do Norte. São usadas na culinária para saladas, sopas, salsichas e carnes. Na medicina como antisséptico e estimulante. Para manter a qualidade e a quantidade dos extratos depende de como será o meio de extração, o fator de extração depende do tipo de solvente, temperatura, pH, número de etapas, relação líquido-sólido e o tamanho de partícula do soluto (50).

Com atividade diurética, estimulante, antimicrobiana, anti-inflamatória, antioxidante e anticancerígena, muitas das atividades são designadas pelos principais compostos presente nesse óleo, como o carvacrol, timol, ácido rosmarínico, borneol, organol, ácido ursólico, hidrocarbonetos de monoterpene e álcoois monoterpeneos (51)

2.5.3 *Eugenia caryophyllata*

O cravo pertence à família da *Myrtaceae*, sua altura varia de 10 a 20 metros, sendo cultivada em Madagascar, Tanzânia, Sri Lanka, Brasil e Indonésia. Usada na medicina com antisséptico contra doenças infecciosas devido a sua atividade antimicrobiana, é usado também nas indústrias de alimentos como aditivo para aumentar a vida útil do produto, por ser um produto natural com ação antibacteriana contra alguns microrganismos causadores de DTAs (52).

Planta com forte odor aromático, sabor ardente e característico. Das sementes extrai o ácido eugênico, sendo a composição química constituída de eugenol, acetato de eugenol, beta-cariofileno, ácido oleânico, e substâncias das classes: triterpeno, ceras vegetais, cetonas, resinas, taninos e esteróis. O componente majoritário é o eugenol que possui capacidade antimicrobiana comprovada contra bactérias Gram positivas e Gram negativas, bem como possui ação contra bactérias anaeróbicas (53;54)

Os botões de *Eugenia caryophyllata* são usados como especiarias na culinária e na medicina natural, por possuir efeitos farmacológicos como atividade antidiabética, hipolipidêmica, gastrópica e imunomoduladora. Utilizado também em produtos agrícolas e alimentos, devido ao seu efeito antibacteriano, antifúngico, acaricida e antivirais (55).

O óleo essencial de cravo é uma substância aromática e volátil usada para aromatizar alimentos e bebidas. Possui propriedades antimicrobianas, anti-inflamatórias e antioxidantes, tendo aplicabilidade na conservação de alimentos, na medicina, indústria de cosméticos e produtos de saúde pessoal (56).

2.5.4 *Zingiberaceae officinale Roscoe*

Pertencente à família *Zingiberaceae*, apresenta 53 gêneros e 1.200 espécies os componentes principais são gingerol, shogal e outros gingerones. Apresenta sabor, aroma característico e possui propriedades farmacológicas, antibacterianas e antioxidante. Para os chineses sua utilização está na medicina, para o tratamento da malária, reumatismo, resfriado, asma, tosse, palpitações, constipação, perda de apetite e inflamação (57-60).

Usada como especiarias nos alimentos, como corantes e como plantas ornamentais, o gengibre é uma planta herbácea que cresce em áreas tropicais e subtropicais. Pertencente ao sudeste Asiático a maior característica é a presença de óleo essencial em todas as partes da planta, principalmente nos rizomas e folhas (61).

A protease presente no gengibre desempenha o papel de melhoria do sabor, da qualidade do processo sem diminuir o valor nutritivo do produto, a qualidade e quantidade de polifenóis depende de fatores como genética, cultivo, composição do solo, condições de crescimento e pós colheita (62).

O extrato tem propriedades antibacterianas, anticonvulsão, analgésicas, antitumoral, antifúngica, antialérgico, antiplquetário, antioxidante e atividade antiartrítica (63;64).

2.5.5 *Cinnamomum cassia*

Cinnamomum cassia, pertence à família *Lauraceae*, tendo ampla propriedade química de cinamaldeído, camphene, linalol, α -phelendrene, α -terpineno e limoneno. São compostos não voláteis usados como aromatizante, conservante natural de alimentos, medicação com finalidade para distúrbios respiratórios, digestivos e ginecológicos, bem como agentes anti-inflamatórios, antioxidantes, antimicrobianos e antidiabéticos (60;65;66).

Nativa da Sri Lanka e da Ásia tropical, florescem em janeiro e suas flores amadurecem durante o período de maio a agosto. Apresenta um odor picante quando esmagados, sendo o óleo da casca usado em confeitarias, alimentos cozidos, picles, tempero para carnes, refrigerante, produtos farmacêuticos e de higiene bucal (67)

Falhas no processo de elaboração ou acondicionamento dos alimentos acarretam contaminações microbiológicas que podem causar doenças transmitidas por alimentos. Como a população está exigindo que as indústrias de alimentos utilizem aditivos que não agridam à saúde, os óleos essenciais podem ser uma opção.

Deste modo, este trabalho tem a finalidade de avaliar o efeito *in vitro* de óleos essenciais de canela, cravo, tomilho, gengibre e orégano no crescimento de *Staphylococcus aureus*.

3.CAPÍTULO 1

ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Origanum vulgare* E *Thymus vulgaris* L. SÃO BACTERICIDAS CONTRA *Staphylococcus aureus* MULTIRRESISTENTES E FORMADORES DE BIOFILMES

Maisa Cristina Benincá¹, Bruna Webber², Luciane Daroit³, Laura Beatriz Rodrigues¹

(Artigo a ser submetido)

¹ Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação. Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil.

² PPGCV, Faculdade de Medicina Veterinária, UFRGS, RS.

³ Instituto de Ciências Exatas e Geociências (ICEG), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil.

* Corresponding author: Maisa Cristina Benincá, programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo. Campos I, Bairro São José. 99052-900 – Passo Fundo, RS, Brasil. Telefone +55 54 991898700. E-mail: mai_beninca@hotmail.com

ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Origanum vulgare* E *Thymus vulgaris* L. SÃO BACTERICIDAS CONTRA *Staphylococcus aureus* MULTIRRESISTENTES E FORMADORES DE BIOFILMES

Resumo

Staphylococcus aureus é um dos principais patógenos responsáveis pelas doenças transmitidas por alimentos, sendo um problema de saúde pública. As indústrias utilizam aditivos químicos para evitar crescimento microbiano e aumentar a vida útil dos produtos. Entretanto, as bactérias vêm se tornando resistentes pelo uso exacerbado de antimicrobianos e aditivos. Além disso, os consumidores estão procurando alternativas seguras e naturais para sua alimentação. Os óleos essenciais (OEs) de plantas são uma alternativa no controle de bactérias patogênicas, podendo ser usados na preservação de alimentos crus e processados, e como tratamento de doenças infecciosas pela medicina natural. Neste trabalho avaliou-se o efeito inibitório *in vitro* dos óleos essenciais de *Origanum compactum* (orégano), *Cinnamomum cassia* (canela), *Eugenia caryophyllus* (cravo), *Thymus vulgaris* L. (tomilho) e *Zingiber officinale* Roscoe (gingibre), em ágar difusão, frente a isolados de *Staphylococcus aureus*. Os OEs de orégano e tomilho apresentaram melhor ação, com os maiores halos de inibição ($p < 0,05$). Desta forma, os óleos de *Origanum vulgare* e *Thymus vulgaris* L. foram selecionados para avaliar a concentração inibitória mínima (MIC) e a concentração bactericida mínima (CBM) sobre cinco isolados de *Staphylococcus aureus*, considerados suscetíveis no teste de ágar difusão. Em ambos os testes, os dois OEs apresentaram a MIC e a CBM de 7,8 mg/mL (diluição 1:128), para todos os isolados. Com este estudo comprovou-se que os óleos essenciais possuem efeito inibitório sobre *Staphylococcus aureus*, podendo ser utilizado como um aditivo natural para o controle microbiológico na tecnologia de alimentos.

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, óleo essencial, concentração bactericida mínima, concentração inibitória mínima, aditivo natural, tecnologia de alimentos.

INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus causa intoxicação alimentar devido à ingestão de uma ou mais enterotoxinas, pré-formadas por cepas enterotoxigênicas. No cenário epidemiológico mundial, este microrganismo é considerado um dos mais relevantes causadores de doenças transmitidas por alimentos (Tavares *et al.*, 2015). É tolerante ao calor, pH, ácidos e sais, gerando preocupação para as indústrias de alimentos (Jamal *et al.*, 2017).

Com interesse em aumentar a segurança dos alimentos e a vida útil dos produtos os conservantes químicos são amplamente usados na indústria, que constantemente busca alternativas antimicrobianas por meio de recursos naturais, como o uso de óleos essenciais (OEs) (Zhang *et al.* 2017). Os OEs mostram atividade promissora contra microrganismos patogênicos (Bag e Chattopadhyay, 2015). A atividade antimicrobiana dos OEs está ligada à sua hidrofobicidade, que permite associação aos lipídios da membrana celular e das

mitocôndrias, tornando os óleos permeáveis, causando extravasamento do citoplasma. Condições físicas, como o baixo pH, baixa temperatura e baixos níveis de oxigênio melhoram a ação antimicrobiana dos óleos (Burt, 2004).

De modo a complementar estudos que contemplem a ação de OEs no combate à bactérias patogênicas, com possibilidade de uso na indústria de alimentos, o objetivo desta pesquisa foi determinar a concentração inibitória mínima (MIC) e a concentração bactericida mínima (CBM) *in vitro* de diferentes óleos essenciais sobre *Staphylococcus aureus*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Isolados bacterianos

Foram utilizados 15 isolados de *Staphylococcus aureus*, obtidos no processo de obtenção de leite cru (Borhz, 2016), com perfil de multirresistência a antibióticos, presença de fatores de virulência e formadores de biofilme, conforme Tabela 1. Esses isolados estavam armazenados congelados em freezer -20°C, e foram reativados e confirmados bioquimicamente para realização dos testes seguintes.

Tabela 1 – Perfil dos isolados de *Staphylococcus aureus* utilizados quanto à formação de biofilmes, fatores de virulência e perfil de resistência a antimicrobianos.

Identificação da amostra	Formação de biofilmes a 36°C	Fatores de virulência			Padrão de resistência antimicrobiana*	IRMA**
		Cápsula	Protease	Hemolisina		
ST1	Fraca	+	+	-	Cfe, Oxa, Pen, Gen, Dox, Tet, Clo, Amc, Sut, Ctf	0,83
ST2	Forte	+	+	+β	Cfe, Oxa, Pen, Dox, Tet, Clo	0,5
ST3	Forte	+	-	+α	Cfe, Oxa, Pen, Dox, Tet, Clo, Van, Amc, Sut, Ctf	0,83
ST4	Fraca	+	+	-	Cfe, Oxa, Pen, Gen, Neo, Dox, Tet, Clo, Van, Amc, Sut, Ctf	1,0
ST5	Forte	+	+	+β	Cfe, Oxa, Pen, Gen, Clo, Amc, Sut, Ctf	0,66
ST6	Forte	+	-	+α	Cfe, Oxa, Pen, Gen, Neo, Dox, Tet, Clo, Van, Amc, Sut, Ctf	0,83
ST7	Forte	+	+	-	Cfe, Oxa, Pen, Gen, Tet, Clo, Van, Amc, Sut, Ctf	0,75
ST8	Forte	+	-	+α	Cfe, Oxa, Pen, Gen, Dox, Tet, Clo, Amc, Sut	0,75
ST9	Fraca	+	+	-	Cfe, Oxa, Pen, Gen, Dox, Tet, Clo, Amc, Sut	0,75
ST10	Forte	+	-	+α	Cfe, Pen, Gen, Neo, Tet, Clo, Amc, Sut	0,66
ST11	Moderada	+	+	-	Cfe, Oxa, Pen, Gen, Neo, Dox, Tet, Clo, Amc, Sut	0,83
ST12	Moderada	+	+	-	Cfe, Oxa, Pen, Gen, Dox, Tet, Clo, Van, Amc, Sut	0,83
ST13	Moderada	-	-	-	Cfe, Oxa, Pen, Tet, Clo, Amc, Sut, Ctf	0,66
ST14	Forte	-	-	-	Cfe, Oxa, Pen, Gen, Dox, Tet, Clo, Amc, Sut	0,75
ST15	Moderada	+	+	-	Cfe, Oxa, Pen, Gen, Neo, Dox, Tet, Clo, Amc, Sut	0,83

Fonte: Bohrz, 2016.

Legendas: * princípios ativos: Cfe = Cefalexina 30 µg, Oxa= Oxacilina 1 µg, Pen= Penicilina G 10 U, Gen= Gentamicina 10 µg, Neo= Neomicina 30 µg, Dox= Doxiciclina 30 µg, Tet= Tetraciclina 30 µg, Clo= Cloranfenicol 30 µg, Van= Vancomicina 30 µg, Amc= Amoxicilina + Ácido Clavulônico 30 µg, Sut= Sulfa + Trimetopim 25 µg, Ctf= Ceftiofur 30µg; ** IRMA = índice de resistência múltipla aos antimicrobianos

Seleção dos óleos essenciais

Os óleos essenciais selecionados foram gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), orégano (*Origanum vulgare*), canela (*Cinnamomum cassia*), cravo (*Eugenia caryophyllus*), e tomilho (*Thymus vulgaris* L.), por apresentarem diferentes graus de ação antimicrobiana frente a bactérias patogênicas (Majolo *et al.*, 2014; Mith *et al.*, 2014; De Carvalho *et al.*, 2015) em estudos prévios.

Todos os óleos foram adquiridos de fornecedor comercial, que previamente os certificados de análise química dos óleos essenciais utilizados, descritos no apêndice A.

Método de ágar difusão

A atividade antibacteriana dos óleos essenciais foi testada pelo método de ágar difusão (Balouiri *et al.*, 2016), inoculando os *Staphylococcus aureus* com um swab estéril embebido na suspensão bacteriana e semeado em oito direções em placa com Ágar Mueller Hinton. Um orifício com diâmetro de 8 mm foi puncionado assepticamente com um perfurador estéril. Inoculou-se no poço 80 µL de cada um dos óleos essenciais sem diluição, em triplicata, para o agente antimicrobiano difundir-se no ágar a fim de inibir o crescimento da estirpe microbiana testada. As placas foram incubadas a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, e a leitura realizada através da mensuração do diâmetro em milímetros (mm) do halo de inibição. Óleo mineral estéril foi usado como controle negativo e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 como microrganismo controle.

Determinação da concentração inibitória mínima (MIC)

Para determinar a concentração inibitória mínima dos óleos essenciais foram utilizadas microplacas estéreis com 96 poços de fundo chato. Inicialmente foi preparada uma suspensão bacteriana equivalente à 0,5 da escala MacFarland (cerca de 1×10^6 UFC/mL), em solução de 0,85% de NaCl, de cada uma das 5 amostras de *Staphylococcus aureus* que obtiveram melhores halos de inibição no teste de ágar difusão. Inoculou-se, em todos os poços, 100 µL do caldo BHI concentração dupla com 10% de Dimetil sulfóxido (DMSO), preparado com 1 parte de DMSO e 9 partes de BHI concentração dupla. Na primeira fileira da microplaca, adicionou-se 100 µL do OEs puro a ser testado, totalizando 200 µL no poço. A diluição seriada foi realizada transferindo 100 µL da primeira fileira para os poços da fileira seguinte,

consecutivamente, obtendo dez concentrações do óleo essencial (1:1; 1:2; 1:4; 1:8; 1:16; 1:32; 1:64; 1:128; 1:256, 1:512). Por fim, adicionou-se 30 μ L da suspensão bacteriana, individualmente, em cada um dos poços. Nos poços do controle negativo do ensaio manteve-se apenas os 100 μ L do caldo BHI concentração dupla com 10% de DMSO, sem adição da bactéria. No controle negativo do óleo essencial foi adicionado 100 μ L de cada OE, individualmente, sem inoculação bacteriana, e realizadas diluições sucessivas. No controle positivo foi adicionado 30 μ L da suspensão bacteriana do *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 em uma fileira de poços, sem adição de OEs. Todos os testes foram realizados em triplicata. As microplacas foram incubadas a $37\pm 1^\circ\text{C}$, e a leitura realizada após 24 e 48 horas, observando se houve turvação. A determinação da concentração inibitória mínima foi definida como a menor concentração dos OEs capaz de inibir o crescimento bacteriano, determinada a partir da ausência de turvação visível a olho nu após 48h de incubação.

Determinação da concentração bactericida mínima (MBC)

Para a confirmação da concentração bactericida mínima (MBC), foi transferida uma alçada de inóculo dos poços, a partir de duas diluições anteriores às sem turvação, para ágar nutriente e incubado $37\pm 1^\circ\text{C}$ por 24h. Após esse período foi observado o crescimento bacteriano nas placas, registrando a menor concentração a que não houve crescimento bacteriano.

Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de Kruskal Wallis e a diferença entre as amostras foi avaliada segundo o teste de Student- Newman- Keuls ($p > 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos no estudo indicam que os óleos essenciais de orégano, tomilho e canela apresentaram ação antimicrobiana, com exceção do óleo de gengibre. Os óleos de orégano e tomilho demonstraram um maior espectro de ação, com halos de inibição maiores ($p < 0,05$) frente às bactérias estudadas (Tabela 2). Os óleos essências de orégano e tomilho

obtiveram melhores resultados (Gráfico 1), inibindo o crescimento de todas as amostras do estudo.

Figura 1. Média dos halos de inibição (mm) da ação de óleos essenciais frente a isolados de *Staphylococcus aureus*.

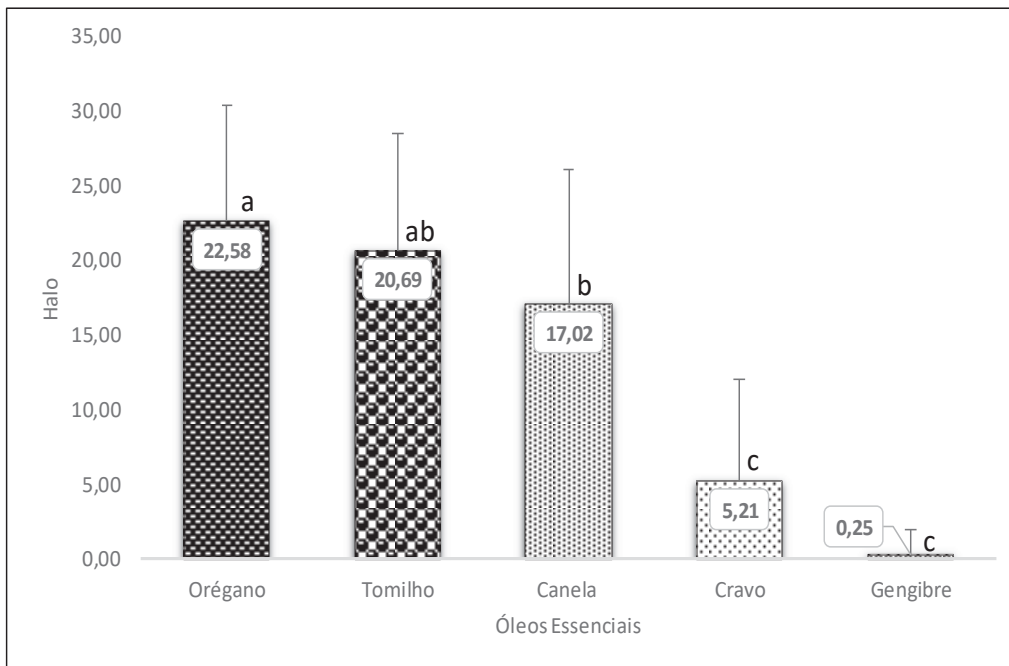


Tabela 2. Valores médios de halos de inibição (mm) formados pela ação dos óleos essenciais de *Zingiber officinale Roscoe*, *Origanum vulgare*, *Cinnamomum cassia*, *Eugenia caryophyllus* e *Thymus vulgaris* L.

Identificação da amostra	Orégano	Tomilho	Canela	Cravo	Gengibre
ATCC	28,67 a A	28,67 a A	21,00 a AB	12,67 a B	0,00 a B
ST1	13,67 b A	11,00 b A	13,67 a A	3,33 a A	0,00 a A
ST2	22,33 abc A	23,00 abc AB	6,00 ab AC	4,33 a AC	4,00 a C
ST3	22,00 bc A	19,00 bcd A	12,00 abc A	3,33 a A	0,00 a A
ST4	23,33 abcd A	29,33 ace AB	24,67 acd ABC	8,00 a ACD	0,00 a AD
ST5	23,67 abcd A	23,67 acdef AB	22,00 acd ABC	3,33 a ACD	0,00 a D
ST6	24,33 abcd A	19,33 bcd AB	23,33 acd ABC	0,00 a B	0,00 a B
ST7	29,00 ade A	24,00 acdef AB	24,67 ade ABC	6,67 a BCD	0,00 a BD
ST8	26,00 abcdef A	19,00 bcd AB	23,33 acdef ABC	4,00 a BCD	0,00 a BD
ST9	17,00 abcdef A	14,00 bcd AB	16,00 abcdefg A	0,00 a A	0,00 a A
ST10	15,00 bcdfg A	14,00 bcd AB	5,67 abcgh A	4,67 a A	0,00 a A
ST11	20,33 bcdfg A	19,33 bcd AB	17,00 abcdfgh AB	4,33 a B	0,00 a B
ST12	27,33 acdefh A	22,67 abcdef AB	24,00 adefgi ABC	10,33 a BCD	0,00 a DB
ST13	17,67 abcdefghi A	15,33 bcd AB	7,33 abcdfgh A	5,33 a A	0,00 a A
ST14	30,00 acdefhijj A	27,33 acdef A	19,00 abcdefghi AB	9,00 a B	0,00 a B
ST15	21,00 bcdfgi A	21,33 abcdef A	12,67 abcdfgh A	4,00 a A	0,00 a A

As médias seguidas das mesmas letras minúsculas nas colunas e pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls ($p > 0,05$).

Com base nos resultados apresentados na tabela 2, o óleo essencial de orégano, as amostras ST7, ST8, ST12 e ST14 apresentaram melhores resultados, com maior sensibilidade, comparado com as outros isolados de *Staphylococcus aureus*. O maior halo de inibição observado foi pela ação do óleo essencial de orégano na amostra ST14. Com o óleo essencial de tomilho, apenas as ST4 e ST14 obtiveram maiores halos comparando com as outras amostras desse estudo, também se observou maior atividade antibacteriana contra a amostra ST4.

Observamos que a amostra ST14 mostrou-se mais sensível frente a ambos os óleos, apresentando melhores resultados de inibição. Conforme estudo realizado por (De Carvalho *et al.*, 2015) essa amostra demonstrou ser fortemente formadora de biofilme e multirresistente a antimicrobianos (tabela 1), essa informação reforça o objetivo desse estudo, já que os óleos essenciais demonstraram forte ação antimicrobiana frente a esta amostra, sendo uma alternativa ao controle desse microrganismo.

O teste de determinação da MIC foi conduzido apenas para os microrganismos cuja a atividade inibitória foi eficiente quando detectada pelo teste ágar difusão, considerando forte atividade do óleo essencial. Os testes mostram que os OEs de orégano e tomilho apresentaram respostas semelhantes frente aos microrganismos avaliados.

Analisou-se a MIC frente as cinco amostras de *Staphylococcus aureus* que obtiveram melhores halos de inibição no teste de ágar difusão. Com diluições seriadas dos óleos essenciais de tomilho e orégano, feitas a partir da concentração do óleo puro (100%) até 0,19%, buscou-se saber qual era a última concentração na qual não houve crescimento bacteriano, porque sabe-se que o volume e a concentração dos óleos são parâmetros que podem ser observados na avaliação do efeito inibitório.

O resultado da MIC do óleo essencial de orégano e tomilho obtido neste trabalho apresentaram o mesmo resultado frente as amostras, tendo crescimento do patógeno a partir da concentração de 7,8 mg/mL (0,078%). Esse resultado demonstra forte atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, já que uma baixa concentração foi capaz de inibir o crescimento do *S. aureus*, sendo promissor o seu uso no controle desse microrganismo. Além disso, foi determinada também a concentração bactericida mínima, através da visualização de crescimento da bactéria em placa, a fim de confirmar a turbidez de cada poço e consequentemente confirmar a concentração inibitória mínima.

De acordo com Hyldgaard, *et al.*, (2012), as propriedades antibacterianas dos metabólitos secundários dos óleo essencial foram avaliadas pela primeira vez em 1881. Já a atividade de inibição bacteriana dos OEs de orégano e tomilho foi relatada pela primeira vez

no ano de 1950, e possuem alto teor de timol e carvacrol, tendo capacidade de permeabilização e despolarização da membrana plasmática, sendo eficazes contra bactérias Gram positivas e Gram negativas (Oussalah *et al.*, 2007; Vasile *et al.*, 2017; Laghmouchi *et al.*, 2018). Reforçando nossos resultados, já que ambos óleos demonstraram ação antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, bactéria Gram positiva.

Vale ressaltar a importância da utilização do agente emulsificante, o DMSO (dimetil sulfóxido) que facilita a difusão do óleo essencial no caldo nutritivo, importante na etapa de diluição dos óleos. Bem como é importante analisar as propriedades físicas e químicas, que são importantes para auxiliar na visualização da atividade antimicrobiana dos óleos (Pesavento *et al.*, 2015). Com isso se observa no apêndice A, os certificados de análise química dos óleos essenciais utilizados neste estudo.

Vasile *et al.*, (2017), avaliaram a atividade antibacteriana dos óleos essenciais de tomilho e cravo frente a diferentes cepas bacteriana, demonstrando que o óleo essencial de tomilho apresentou forte ação antibacteriana, podemos assim comparar com os resultados obtidos no nosso estudo, demonstrando a forte ação antimicrobiana do tomilho frente as amostras de *Staphylococcus aureus*, sendo uma boa alternativa para redução da carga microbiana.

Gonçalves *et al.*, (2017), estudaram a atividade antibacteriana do óleos essencial de tomilho por meio do encapsulamento e em meio livre. Observaram que o OE encapsulado teve maior efeito do que comparado com o OE livre, apresentando forte potencial para uso em conservante natural em alimentos, podendo ser aplicados em bolos para aumentar a sua vida útil. Sabe-se que o OE de tomilho é usado como conservante natural em produto de panificação, isso reforça a aplicabilidade do nosso estudo, já que o uso desses óleos quando associado a tecnologia de microencapsulação podem ser uma alternativa natural no uso de aditivos.

Carvalho *et al.*, (2015), estudou o efeito do óleo de tomilho na redução da carga bacteriana de *Staphylococcus aureus* em queijo fresco, corroborando com nossos achados. Honório *et al.*, 2015, relataram atividade antibacteriana do óleo essencial de orégano e tomilho frente a várias cepas Gram positivas e Gram negativas, sendo que o tomilho apresentou mais efeito antimicrobiano nas cepas Gram negativas e o orégano na cepa Gram positiva.

As especiarias naturais estão regulamentadas como aditivos naturais ou aromatizantes, e possuem status GRAS (geralmente seguro para uso), sendo seu uso autorizado em alimentos pela FDA nos EUA e pela autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos.

Pesavento *et al.*, (2015), estudaram a atividade antibacteriana e sensorial do óleo essencial do tomilho e orégano em almôndegas cozidas, relatando efeito benéfico na redução da carga bacteriana e a aceitabilidade do produto com o período de 4 dias em temperatura de conservação de 4°C. Segundo Semeniuc *et al.*, (2017), avaliaram em seu trabalho a atividade antimicrobiana do óleo essencial de tomilho frente a cepas Gram positivas e Gram negativas, mostrando a eficácia desse óleo mesmo em baixas concentrações, como observado nos nossos resultados.

Moraes-Lovison *et al.*, (2017) estudaram a técnica de encapsulação por nanoemulsão com diferentes concentrações do óleo de orégano para avaliar a atividade antibacteriana. Obtendo bom resultado quando incorporado em pate de frango prevenindo o controle microbiológico e estendendo a vida útil do produto. Marques *et al.*, (2015), estudaram a atividade antimicrobiana do óleo essencial de orégano sobre bactérias isoladas de carne de aves comercializadas, todos os isolados foram sensíveis ao óleo essencial testado sendo uma ferramenta alternativa na prevenção quando se trata de inibição bacteriana.

É importante ressaltar que a composição dos óleos essenciais depende de inúmeros fatores, como região geográfica e clima. Laghmouch *et al.*, (2018), estudou a composição química e a atividade antibacteriana do óleo essencial de orégano colhidos em quatorze locais geograficamente diferentes em seis áreas no norte do Marrocos, mostrando diferentes atividades bacterianas com base na diferença dos seus compostos químicos.

Comparações deste estudo com os similares devem ser cautelosas, pois alguns estudos empregam técnicas diferentes de ágar difusão ou microdiluição, na maioria dos casos não seguem procedimentos como aqui empegados, este estudo permitiu evidenciar atividade de alguns óleos essenciais sobre isolados de *Staphylococcus aureus*.

Os resultados apresentados se mostraram satisfatórios com uma concentração baixa dos óleos essenciais avaliados, sendo fundamentais para o desenvolvimento de produtos alternativos para o controle do crescimento bacteriano.

CONCLUSÃO

A utilização dos óleos essenciais de tomilho e orégano como inibidores do crescimento bacteriano é de suma importância pois podem ser uma alternativa na substituição de aditivos químicos em alimentos, já que estes produtos demonstraram ação antibacteriana. Sugere-se mais estudos na questão de análise sensorial e a aceitabilidade do produto no qual o óleo essencial será acrescentado

REFERÊNCIAS

1. Tavares AG, do Monte DFM, Dos Reis Albuquerque A, Sampaio FC, Magnani M, De Siqueira Júnior JP, et al. Habituation of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* to *Origanum vulgare* essential oil does not induce direct-tolerance and cross-tolerance to salts and organic acids. *Brazilian J Microbiol.* 2015;46(3):835–40.
2. Jamal M, Ahmad W, Andleeb S, Jalil F, Imran M, Nawaz MA, et al. Bacterial biofilm and associated infections. *J Chin Med Assoc.* 2018 Jan; 81(1):7-11.
3. Zhang LL, Zhang LF, Hu QP, Hao DL, Xu JG. Chemical composition, antibacterial activity of *Cyperus rotundus* rhizomes essential oil against *Staphylococcus aureus* via membrane disruption and apoptosis pathway. *Food Control* . 2017 Oct;80:290-96.
4. Bag A, Chattopadhyay RR. Evaluation of Synergistic Antibacterial and Antioxidant Efficacy of Essential Oils of Spices and Herbs in Combination. *PLoS One.* 2015 Jul 1;10(7):e0131321.
5. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods— a review. *International Journal of Food Microbiology.* 2004;94(3):223-53.
6. Bohrz DAS. Formação de biofilmes e multirresistência a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* isolados da higienização de ambiente de ordenha. 2015. Dissertação de mestrado (Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2015.
7. Majolo, C. et al. Antimicrobial activity of essential oil from *Curcuma longa* and *Zingiber officinale* rhizomes against enteric *Salmonella* isolated from chicken. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai.* 2014,16(3):505-12.
8. Mith, H.; Dure, R.; Delcenserie, V.; Zhiri, A.; Daube, G.; Clinquart, A. Antimicrobial activities of commercial essential oils and their components against food-borne pathogens and food spoilage bacteria. *Food Science & Nutrition.* 2014,2(4):403–16.
9. De Carvalho RJ, de Souza GT, Honório VG, de Sousa JP, da Conceição ML, Maganani M, et al. Comparative inhibitory effects of *Thymus vulgaris* L. essential oil against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and mesophilic starter co-culture in cheese-mimicking models. *Food Microbiol.* 2015 Dec;52:59-65.
10. Hyldgaard M, Mygind T, Meyer RL. Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front Microbiol.* 2012;3:12.

11. Oussalah M, Caillet S, Saucier L, Lacroix M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 2007;18(5):414–20.
12. Vasile C, Sivertsvik M, Miteluț A, Brebu M, Stoleru E, Rosnes J, et al. Comparative Analysis of the Composition and Active Property Evaluation of Certain Essential Oils to Assess their Potential Applications in Active Food Packaging. *Materials (Basel)*. 2017 Jan 7;10(1).
13. Laghmouchi Y, Belmehdi O, Senhaji NS, Abrini J. Chemical composition and antibacterial activity of *Origanum compactum* Benth. essential oils from different areas at northern Morocco. *South African Association of Botanists*; 2018;115:120–5.
14. Pesavento G, Calonico C, Bilia AR, Barnabei M, Calesini F, Addona R, et al. Antibacterial activity of *Oregano*, *Rosmarinus* and *Thymus* essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. *Food Control*. 2015;54:188–99.
15. Gonçalves JCR, de Meneses DA, de Vasconcelos AP, Piauilino CA, Almeida FR de C, Napoli EM, et al. Essential oil composition and antinociceptive activity of *Thymus capitatus*. *Pharm Biol*. 2017;55(1):782–6.
16. Carvalho, R.J, Sousa GT, Honório VG, Sousa JP, Conceição ML, Maganani M, Sousa EL. Comparative inhibitory effects of *Thymus vulgaris* L. essential oil against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and mesophilic starter co-culture in cheese-mimicking models. *Food Microbiology*. 2015;52:59-65.
17. Honório VG, Bezerra J, Souza GT, Carvalho RJ, Gomes-Neto NJ, Figueiredo RCBQ, et al. Inhibition of *Staphylococcus aureus* cocktail using the synergies of oregano and rosemary essential oils or carvacrol and 1,8-cineole. *Front Microbiol*. 2015 Nov;6:1–10.
18. Semeniuc CA, Pop CR, Rotar AM. Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against Gram positive and Gram negative bacteria. *J Food Drug Anal*. 2017;25(2):403–8
19. Moraes-Lovison M, Marostegan LFP, Peres MS, Menezes IF, Ghiraldi M, Rodrigues RAF, et al. Nanoemulsions encapsulating oregano essential oil: Production, stability, antibacterial activity and incorporation in chicken pâté. *LWT - Food Sci Technol*. 2017;77:233–40.
20. Marques J de L, Volcão LM, Funck GD, Kroning IS, da Silva WP, Fiorentini ÂM, et al. Antimicrobial activity of essential oils of *Origanum vulgare* L. and *Origanum majorana* L. against *Staphylococcus aureus* isolated from poultry meat. *Ind Crops Prod*. 2015;77:444–50.

4. CONCLUSÃO

O uso dos produtos naturais é uma maneira alternativa de controlar a presença de bactérias patogênicas, já que seus componentes contêm propriedades antimicrobianas, com isso seu uso é promissor na indústria de alimentos a fim de conservar e aumentar a vida útil do produto. Com esse estudo e com os resultados obtidos podemos concluir que:

- a) Os óleos essenciais de canela, cravo, tomilho e orégano apresentam atividade antimicrobiana, sendo os óleos de orégano e tomilho estatisticamente os mais efetivos sobre as amostras de *Staphylococcus aureus*.
- b) O resultado da concentração inibitória mínima dos óleos essenciais de orégano e tomilho apresentaram resultado semelhante, tendo crescimento do patógeno a partir da concentração de 7,8 mg/mL (0,078%), demonstrando forte atividade antimicrobiana com baixa concentração.
- c) Por fim, o uso dos óleos de tomilho e orégano em baixas concentrações demonstraram ser eficaz no controle do *Staphylococcus aureus*.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas condições experimentais utilizadas, conclui-se que os óleos essenciais de canela, cravo, tomilho e orégano apresentam atividade antimicrobiana, sendo o óleo de orégano e tomilho o mais efetivo sobre o *Staphylococcus aureus*.

Devido a sua atividade antibacteriana e sua disponibilidade como produto natural, os óleos essenciais podem ser utilizados como aditivos naturais, abrindo perspectivas para a aplicação na indústria de alimentos a fim de auxiliar no controle de qualidade e na vida útil dos produtos.

Esse estudo contribui para o conhecimento mais aprofundado sobre os OEs de tomilho e orégano frente *Staphylococcus aureus*. Porém mais pesquisas são necessárias, como o uso da microencapsulação sem alterar as funções organolépticas.

Como perspectivas futuras deste trabalho estão os testes com a ação dos óleos de tomilho e orégano em matriz alimentícia. A partir desses resultados conseguiremos ter uma visão da aplicabilidade do óleo em produtos na indústria de alimentos.

6. REFERÊNCIAS

1. Norajit K, Laohakunjit N, Kerdchoechuen O. Antibacterial Effect of Five *Zingiberaceae* Essential Oils. *Molecules*. 2007 Aug; 23;12(8):2047-60.
2. Pesavento G, Calonico C, Bilia AR, Barnabei M, Calesini F, Addona R, et al. Antibacterial activity of Oregano, *Rosmarinus* and *Thymus* essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. *Food Control*. 2015 Aug; 54: 188–99.
3. Santamarina MP, Ibáñez M, Marqués M, Roselló J, Giménez S, Blázquez MA. Bioactivity of essential oils in phytopathogenic and post-harvest fungi control. *Nat Prod Res*. 2017 Nov; 31(22):2675-79.
4. Solórzano-Santos F, Miranda-Navales MG. Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Curr Opin Biotechnol*. 2012 April;23(2):136–41.
5. Xu JG, Liu T, Hu QP, Cao XM. Chemical Composition, Antibacterial Properties and Mechanism of Action of Essential Oil from *Clove Buds* against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*. 2016 Sep;21(9):1194.
6. Sartoratto A, Machado ALM, Delarmelina C, Figueira GM, Duarte MCT, Rehder VLG. Composition and antimicrobial activity of essential oils aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2015 Oct.-Dec;35(4):275-80.
7. Shao S, Zhou T, Tsao R. Antimicrobials from plants – food preservation and shelf-life extension. In: MOO-YOUNG, M.(Ed.). *Comprehensive Biotechnology*, University of Waterloo, Canada,2011. 4:645–58.
8. Tiwari HK, Sapkota D, Das AK, Sen SR. Assessment of different tests to detect methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 2009 Jul;40(4):801-6.
9. Kamazeri TSAT, Samah OA, Taher M, Susanti D, Qaralleh H. Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zingiber cassumunar* from Malaysia. *Asian Pac J Trop Med*. 2012 Mar;5(3):202-9.
10. Valeriano C, Piccoli RH, Cardoso MG, Alves E. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. *Rev Bras Plantas Med*. 2012;14(1):57–67.
11. Bag A, Chattopadhyay RR. Evaluation of Synergistic Antibacterial and Antioxidant Efficacy of Essential Oils of Spices and Herbs in Combination. *PLoS One*. 2015 Jul 1;10(7):e0131321.

12. Oliveira DB De, Bombana CC, Almeida G De, Rodrigues G. Caracterização de *Staphylococcus aureus* isolados da barra de mão de carrinhos e alças de cestas de supermercados. *Rev Ciênc Farm Básica*. 2015 Apl;36(3):407-12.
13. Santos DO, Leal B, Ferreira A, Rodrigues CR, Castro HC. *Staphylococcus aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. *J Barsileiro Patol e Med Lab*. 2007 Jan;43(6):413–23.
14. Ali-Vehmas T, Vikerpuur M, Pyörälä S, Atroshi F. Characterization of hemolytic activity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitic milk. *Microbiol Res*. 2001 Mar;155(4):339-44.
15. Shawish RR, Al-Humam NA. Contamination of beef products with staphylococcal classical enterotoxins in Egypt and Saudi Arabia. *GMS Hyg Infect Control*. 2016 Apr; 1;11:Doc08.
16. Gandhi AD, Vizhi DK, Lavanya K, Kalpana VN, Devi Rajeswari V, Babujanarthanam R. In vitro anti- biofilm and anti-bacterial activity of *Sesbania grandiflora* extract against *Staphylococcus aureus*. *Biochem Biophys Rep*. 2017 Dec; 12:193-97.
17. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frangos. Brasília, DF, 2008; 186p.
18. Schwarz S, Silley P, Simjee S, Woodford N, Duijkeren E, Johnson AP, et al. Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2010 April;56(4):601–4.
19. Jamal M, Ahmad W, Andleeb S, Jalil F, Imran M, Nawaz MA, et al. Bacterial biofilm and associated infections. *J Chin Med Assoc*. 2018 Jan; 81(1):7-11.
20. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilmes. *Annual Review of Microbiology*. 1995;(49):711-745.
21. Iñiguez-Moreno M, Gutiérrez-Lomelí M, Guerrero-Medina PJ, Avila-Novoa MG. Biofilm formation by *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. under mono and dual-species conditions and their sensitivity to cetrimonium bromide, peracetic acid and sodium hypochlorite. *Braz J Microbiol*. 2018 Apr - Jun;49(2):310-319.
22. Thiran E, Di Ciccio PA, Graber HU, Zanardi E, Ianieri A, Hummerjohann J. Biofilm formation of *Staphylococcus aureus* dairy isolates representing different genotypes. *J Dairy Sci*. 2018 Feb;101(2):1000-12.
23. Webber B. Dinâmica de formação de biofilmes por *Salmonella Enteritidis* sob diferentes temperaturas e o efeito de tratamentos de remoção. Dissertação (Mestrado em Bioexperimentação)-Curso de Pós-graduação em Bioexperimentação, Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo- UPF; 2015.
24. Phuong NTM, Van Quang N, Mai TT, Anh NV, Kuhakarn C, Reutrakul V, et al. Antibiofilm activity of α -mangostin extracted from *Garcinia mangostana L.* against


- Staphylococcus aureus*. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2017 Dec;10(2):1154-60.
25. Hu Y, Gao GF, Zhu B. The antibiotic resistome: gene flow in environments, animals and human beings. Front Med. 2017 Jun;11(2):161-168.
 26. Tavares W. Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfecciosos. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2001.
 27. Rossi F, Andreatzi DB. Resistência bacteriana: interpretando o antibiograma. São Paulo: Atheneu, 2005.
 28. González-Bello C. Antibiotic adjuvants – A strategy to unlock bacterial resistance to antibiotics. Bioorg Med Chem Lett. 2017 Sep 15;27(18):4221-28.
 29. Prigitano A, Romanò L, Auxilia F, Castaldi S, Tortorano AM. Antibiotic resistance: Italian awareness survey 2016. J Infect Public Health. 2018 Jan-Feb;11(1):30-4.
 30. Rather IA, Kim BC, Bajpai VK, Park YH. Self-medication and antibiotic resistance: Crisis, current challenges, and prevention. Saudi J Biol Sci. 2017 May; 24(4): 808–12.
 31. Gupta PD, Birdi TJ. Development of botanicals to combat antibiotic resistance. J Ayurveda Integr Med. 2017 Oct-Dec;8(4):266-75.
 32. Hitch TCA, Thomas BJ, Friedersdorff JCA, Ougham H, Creevey CJ. Deep sequence analysis reveals the ovine rumen as a reservoir of antibiotic resistance genes. Environ Pollut. 2018 Apr; 235:571-75.
 33. Wang W, Baloch Z, Jiang T, Zhang C, Peng Z, Li F, et al. Enterotoxigenicity and Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated from Retail Food in China. Front Microbiol. 2017; 8: 2256.
 34. Sezefred TS, Murata FHA, Peresi JTM, Paschoal VD, Pedro HSP, Nardi SMT. História em quadrinhos para ensino e prevenção das doenças transmitidas por alimentos. Arq. Ciênc. Saúde. 2016 abr-jul;23(2)81-86.
 35. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – SVS. Dados epidemiológicos – DTA – período de 2000 a 2017. [capturado 10 Jul. 2018] Disponível em: www.saude.gov.br
 36. Tavares AG, do Monte DFM, Dos Reis Albuquerque A, Sampaio FC, Magnani M, De Siqueira Júnior JP, et al. Habituation of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* to *origanum vulgare l*. Essential oil does not induce direct-tolerance and cross-tolerance to salts and organic acids. Brazilian J Microbiol. 2015;46(3):835–40.
 37. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC216, de 15 de setembro de 2004. Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Diário Oficial da União. 2004.

38. Sharma H, Mendiratta SK, Agarwal RK, Kumar S, Soni A. Evaluation of anti-oxidant and anti-microbial activity of various essential oils in fresh chicken sausages. *J Food Sci Technol*. 2017 Feb;54(2):279-292.
39. Yavuz DÖ, Mavis M, Ateş G, Hanoğlu A, Yiğit Hanoğlu D, Can Başer KH, et al. Identification of potential therapeutic role of thymus capitatus essential oil using cellular imaging. *Procedia Comput Sci*. 2017;120:961–6.
40. Almeida MP de, Romero RB, Romero AL, Crespan ER. Explorando a química e a atividade antifúngica de óleos essenciais: uma proposta de projeto para a Educação Básica. *Lat Am J Sci Educ*. 2015;22059:14.
44. De Carvalho RJ, de Souza GT, Honório VG, de Sousa JP, da Conceição ML, Maganani M, et al. Comparative inhibitory effects of *Thymus vulgaris* L. essential oil against *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and mesophilic starter co-culture in cheese-mimicking models. *Food Microbiol*. 2015 Dec;52:59-65.
42. Akdemir Evrendilek G. Empirical prediction and validation of antibacterial inhibitory effects of various plant essential oils on common pathogenic bacteria. *Int J Food Microbiol*. 2015 Jun 2;202:35-41.
43. Ajiboye JA, Erukainure OL, Okoro EE, Asieba G. Artesunate-induced testicular injury: Oil from selected spices blend modulates redox homeostasis and exacerbates steroidogenesis in rat models. *Clin Nutr Exp*. 2016 Dec;10:12–20.
44. Van Asselt ED, Banach JL, van der Fels-Klerx HJ. Prioritization of chemical hazards in spices and herbs for European monitoring programs. *Food Control*. 2016 Jan;83:7–17.
45. Donegá MA, Ferezini G, Mello SC, Minami K, Silva SR. Recipientes e substratos na produção de mudas e no cultivo hidropônico de tomilho (*Thymus vulgaris* L.). *Rev Bras Plantas Med*. 2014;16(2):271–4.
46. Kohiyama CY, Yamamoto Ribeiro MM, Mossini SAG, Bando E, Bomfim NDS, Nerilo SB, et al. Antifungal properties and inhibitory effects upon aflatoxin production of *Thymus vulgaris* L. by *Aspergillus flavus* Link. *Food Chem*. 2015 Apr 15;173:1006-10.
47. Komaki A, Hoseini F, Shahidi S, Baharlouei N. Study of the effect of extract of *Thymus vulgaris* on anxiety in male rats. *J Tradit Complement Med*. 2016 Jul; 6(3): 257–261.
48. Al-Asmari AK, Athar MT, Al-Faraidy AA, Almuhaiza MS. Chemical composition of essential oil of *Thymus vulgaris* collected from Saudi Arabian market. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2017 Feb;7(2):147–50.
49. Jakiemiu EAR, Scheer ADP, Oliveira JS de, Côcco LC, Yamamoto CI, Deschamps C. Estudo da composição e do rendimento do óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris* L.). *Semin Ciências Agrárias*. 2010 Set;31(3):683.
50. Majeed M, Hussain AI, Chatha SAS, Khosa MKK, Kamal GM, Kamal MA, et al. Optimization protocol for the extraction of antioxidant components from *Origanum vulgare* leaves using response surface methodology. *Saudi J Biol Sci*. 2016 May;23(3):389–96.

51. Afarineshe Khaki MR, Pahlavan Y, Sepehri G, Sheibani V, Pahlavan B. Antinociceptive Effect of Aqueous Extract of *Origanum vulgare L.* in Male Rats: Possible Involvement of the GABAergic System. *Iran J Pharm Res.* 2013 Spring;12(2):407-13.
52. Liu Q, Meng X, Li Y, Zhao CN, Tang GY, Li HB. Atividades Antibacterianas e Antifúngicas de Especiarias. *Int J Mol Sci.* 2017 jun; 18(6):1283.
53. Silvestri JDF, Paroul N, Czyewski E, Lerin L, Rotava I, Cansian RL, et al. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). *Rev Ceres.* 2010;57(5):589–94.
54. Zhang Y, Wang Y, Zhu X, Cao P, Wei S, Lu Y. Antibacterial and antibiofilm activities of eugenol from essential oil of *Syzygium aromaticum (L.) Merr. & L. M. Perry* (clove) leaf against periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *Microb Pathog.* 2017 Dec;113:396-402.
55. Issac A, Gopakumar G, Kuttan R, Maliakel B, Krishnakumar IM. Safety and anti-ulcerogenic activity of a novel polyphenol-rich extract of clove buds (*Syzygium aromaticum L.*). *Food Funct.* 2015 Mar;6(3):842-52.
56. Zhang LL, Zhang LF, Hu QP, Hao DL, Xu JG. Chemical composition, antibacterial activity of *Cyperus rotundus* rhizomes essential oil against *Staphylococcus aureus* via membrane disruption and apoptosis pathway. *Food Control.* 2017 Oct;80:290-96.
57. Almalki E, Al-Shaebi EM, Al-Quarishy S, El-Matbouli M, Abdel-Baki AAS. In vitro effectiveness of *Curcuma longa* and *Zingiber officinale* extracts on *Echinococcus protoscoleces*. *Saudi J Biol Sci.* 2017 Jan;24(1):90–4.
58. Koga AY, Beltrame FL, Pereira A V. Several aspects of *Zingiber zerumbet*: A review. *Brazilian Journal of Pharmacognosy.* 2016 May-June 2016;26(3):385-91.
59. Lei H, Wei Q, Wang Q, Su A, Xue M, Liu Q, et al. Characterization of ginger essential oil/palygorskite composite (GEO-PGS) and its anti-bacteria activity. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017 Apr 1;73:381-387.
60. Silva MTN, Ushimaru PI, Barbosa LN, Cunha MLRS, Fernandes A. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. *Rev Bras Plantas Med.* 2009;11(3):257–62.
61. Saensouk S, Saensouk P, Pasorn P, Chantaranonthai P. Diversity and uses of *Zingiberaceae* in Nam Nao National Park, Chaiyaphum and Phetchabun provinces, Thailand, with a new record for Thailand. *Agric Nat Resour;* 2016 Nov ;50(6):445–53.
62. Ashraf K, Ahmad A, Chaudhary A, Mujeeb M, Ahmad S, Amir M, et al. Genetic diversity analysis of *Zingiber officinale Roscoe* by RAPD collected from subcontinent of India. *Saudi J Biol Sci.* 2014 Apr;21(2):159-65.

63. Akinyemi AJ, Adedara IA, Thome GR, Morsch VM, Rovani MT, Mujica LKS, et al. Dietary supplementation of ginger and turmeric improves reproductive function in hypertensive male rats. *Toxicol Rep.* 2015 Oct 13;2:1357-66.
64. Chakraborty B, Nath A, Saikia H, Sengupta M. Bactericidal activity of selected medicinal plants against multidrug resistant bacterial strains from clinical isolates. *Asian Pac J Trop Med.* 2014 Sep;7S1:S435-41.
65. Shan B, Cai YZ, Brooks JD, Corke H. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): Activity against foodborne pathogenic bacteria. *J Agric Food Chem.* 2007;55(14):5484–90
66. Mahmoudvand H, Mahmoudvand H, Oliaee RT, Kareshk AT, Mirbadie SR, Aflatoonian MR. In vitro Protoscolicidal Effects of *Cinnamomum zeylanicum* Essential Oil and Its Toxicity in Mice. *Pharmacogn Mag.* 2017;13(Suppl 3):S652–7.
67. Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L, Sakariah KK. Chemical composition of the flower oil of *Cinnamomum zeylanicum* Blume. *J Agric Food Chem.* 2000;48(9):4294–5.

APÊNDICE A**CERTIFICADO DE ANÁLISE QUÍMICA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS**

<p>Created on: 22.03.2016 Page: 1 of 9</p>	<p>MATERIAL SAFETY DATA SHEET</p> <p>according to regulation (EC) 1907/2009 according to regulation (EU) 453/2010 2872 Thyme (Cineol)</p>	<p>AYUS GMBH</p> 
--	---	--

1. IDENTIFICATION OF THE SUBSTANCE AND OF THE COMPANY

1.1 Product identifier

Trade Name: Thyme (Cineol)
 Botanical Name: Thymus vulgaris
 INCI: Thymus Vulgaris Oil (Thyme Oil)
 CAS TSCA-No: 8007-46-3
 CAS EINECS-No: 85085-75-2
 EINECS-No.: 285-397-0
 FEMA-No.: /

1.2 Relevant identified uses of the substance and uses advised against

Substance use: Perfumery and/or aromatic uses

1.3 Details of the supplier of the safety data sheet

Supplier name: AYUS GmbH
 Address: Am Dreschschoopf 1
 Phone: +49 7227 600 99-0
 Fax: +49 7227 600 99-99
 E-mail: info@oshadhi.eu

1.4 Emergency telephone number

Poison emergency number: 089-19240

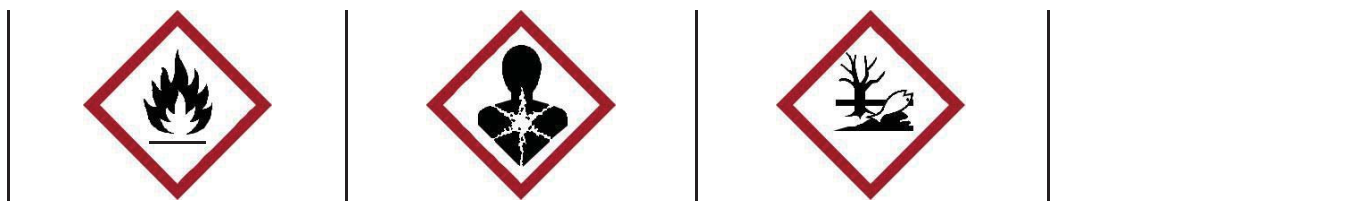
2. HAZARDS IDENTIFICATION

2.1 Classification of the substance according to regulation (EG) 1272/2008 (CLP)

Hazard class and Hazard category	Code	Hazard statement
Flammable liquids, category 2	H225	Highly flammable liquid and vapour.
Skin corrosion/irritation, category 2	H315	Causes skin irritation.
Respiratory/skin sensitisation, skin sensitisation category 1	H317	May cause an allergic skin reaction.
Acute Toxicity, category 4 - inhalation	H332	Harmful if inhaled.
Hazardous to the aquatic environment, chronic category 2	H411	Toxic to aquatic life with long lasting effects.

2.2 Label elements

Hazard pictogram and signal word

**DANGER:****H-Statements:**

H225
H315

Highly flammable liquid and vapour.
Causes skin irritation.

H317	May cause an allergic skin reaction.
H332	Harmful if inhaled.
H411	Toxic to aquatic life with long lasting effects.

P-Statements:**Prevention:**

P210	Keep away from heat/sparks/open flames/hot surfaces. – No smoking.
P233	Keep container tightly closed.
P240	Ground/bond container and receiving equipment.
P241	Use explosion-proof electrical/ventilating/lighting/.../equipment.
P242	Use only non-sparking tools.
P243	Take precautionary measures against static discharge.
P261	Avoid breathing dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray.
P264	Wash thoroughly after handling.
P271	Use only outdoors or in a well-ventilated area.
P272	Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.
P273	Avoid release to the environment.
P280	Wear protective gloves / eye protection.

Response:

P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P303+P361+P353	IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower.
P304+P340	IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing.
P312	Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
P321	Specific treatment (see on this label).
P332+P313	If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
P362	Take off contaminated clothing and wash before reuse.
P363	Wash contaminated clothing before reuse.
P370+P378	In case of fire: Use CO2 for extinction.
P391	Collect spillage.

Storage:

P403+P235 Store in a well-ventilated place. Keep cool.

Disposal:

P501 Dispose of contents/container to special waste.

2.3 Other Hazards

Allergens (according to regulation (EC) No 1223/2009 on cosmetic products)

Geraniol	max. 1,0 %
Limonene	max. 2,0 %
Linalool	max. 4,5 %

3. COMPOSITION / INFORMATION ON INGREDIENTS**3.1 Substances**

Chemical Identification: Thymus vulgaris oil (100% natural essential oil)

Hazardous constituent: according to EG-Regulation 1272/2008 (CLP)

Ingredient	Concentration	Registration-N.	CLP-Classification
1,8-Cineol	< 35,0 %	CAS-No: 470-82-6 EINECS-No: 207-431-5	Flam. Liq. 3, H226
alpha-Pinene	< 6,0 %	CAS-No: 80-56-8 EINECS-No: 201-291-9	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304 Skin Sens. 1, H317 Aquatic Chronic 1, H410

alpha-Terpineol	< 5,0 %	CAS-No: 98-55-5 EINECS-No: 202-680-6	Org. Perox. EF, H242-3 Skin Irrit. 2, H315 Eye Irrit. 2, H319
Borneol	< 8,0 %	CAS-No: 507-70-0 EINECS-No: 208-080-0	Flam. Sol. 2, H228-1
Camphene	< 8,0 %	CAS-No: 79-92-5 EINECS-No: 201-234-8	Flam. Sol. 2, H228-1 Eye Irrit. 2, H319 Aquatic Acute 1, H400 Aquatic Chronic 1, H410
Camphor	< 15,0 %	CAS-No: 76-22-2 EINECS-No: 200-945-0	Flam. Sol. 2, H228-1 Acute Tox. 4, H332 STOT SE 2, H371
Carvacrol	< 3,5 %	CAS-No: 499-75-2 EINECS-No: 207-889-6	Acute Tox. 4, H302 Skin Irrit. 2, H315 Skin Sens. 1, H317 Eye Irrit. 2, H319
gamma-Terpinene	< 8,0 %	CAS-No: 99-85-4 EINECS-No: 202-794-6	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304
Limonene	< 2,0 %	CAS-No: 5989-27-5 EINECS-No: 227-813-5	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304 Skin Irrit. 2, H315 Skin Sens. 1, H317 Aquatic Chronic 1, H410
Linalool	< 4,5 %	CAS-No: 78-70-6 EINECS-No: 201-134-4	Skin Irrit. 2, H315
Linalyl acetate	< 2,0 %	CAS-No: 115-95-7 EINECS-No: 204-116-4	Skin Irrit. 2, H315 Eye Irrit. 2, H319
Myrcene	< 6,0 %	CAS-No: 123-35-3 EINECS-No: 204-622-5	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304 Aquatic Chronic 3, H412
Paracymene	< 8,0 %	CAS-No: 99-87-6 EINECS-No: 202-796-7	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304 Aquatic Chronic 2, H411
Terpinene-4-ol	< 5,0 %	CAS-No: 562-74-3 EINECS-No: 209-235-5	Acute Tox. 4, H302 Skin Irrit. 2, H315
Thymol	< 8,0 %	CAS-No: 89-83-8 EINECS-No: 201-944-8	Acute Tox. 4, H302 Skin. Corr. 1A, 1B, 1C, H314 Eye Dam. 1, H318

4. FIRST AID MEASURES

4.1 Description of first aid measures

Excessive inhalation:	Remove to fresh air environment – summon a physician immediately.
Skin contact:	Wash contaminated skin with copious amounts of water and soap. Remove contaminated clothes and wash them before reuse. Summon a physician, if an irritation appears.
Eye contact:	Wash contaminated skin with copious amounts of water for at least 10 minutes – open eyelids forcibly. Summon a physician immediately.
Ingestion:	Dilute with water. Do not induce vomiting. Contact physician.

4.2 Most important symptoms and effects, both acute and delayed

No further details.

4.3 Indication of any immediate medical attention and special treatment needed

Contact a poison specialist immediately if large quantities have been ingested or inhaled.

5. FIREFIGHTING MEASURES

5.1 Extinguishing media

Advised extinguisher: Use CO₂, dry powder, fire extinguisher or foam.

Unadvisable extinguisher: Direct jet of water.

5.2 Special hazards arising from the substance or mixture

Avoid breathing vapours and smokes produced by fire.

Burning will cause strong smoke and soot.

Vapors may form explosive mixtures with air.

Containers may explode with the heat of fire.

5.3 Advice for firefighters

Do not attempt to fight the fire with water, which tends to feed rather than smother the flames. Essential oils have the ability to float on water and this causes the fire to propagate more quickly. Small fires can be smothered by covering with earth, sand or a blanket.

6. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency procedures

Avoid skin, eye and clothes contact. There is a risk of sliding caused by the leaked product. Ventilate well spilling area. Keep away from sources of ignition.

6.2 Environmental precautions

Avoid dispose into drainage, sewer system or in any natural environment. Dispose binding material, cloths and sponges according to the national law.

6.3 Methods and material for containment and cleaning up

Use of absorbent material (e.g. sand, diatomaceous earth).

6.4 Reference to other sections

Please see section 8 and 13.

7. HANDLING AND STORAGE

7.1 Precautions for safe handling

Ventilate the storage and preparation warehouse/laboratory. Avoid eating, drinking and smoking in the places where products are stored and treated. Manipulate with caution to avoid any projection particularly in eyes and on mucous membranes. Do not expose vapors to the flame or quite other source of ignition. Do not inhale warm vapors.

7.2 Conditions for safe storage, including any incompatibilities

It is recommended to keep the product in a water-tight and air-tight container. Keep away from heat and sunlight. Store in a cool and good ventilated area.

7.3 Specific end uses

No specific.

8. EXPOSURE CONTROLS / PERSONAL PROTECTION

8.1. Control parameters

Please pay attention to the usual precautionary measures with the contact of essential oils. Use good hygiene practice: Please wash before contact, before eating and at the end of the working day.

8.2 Exposure controls

Personal protective equipment:

Breathing protection: Use in well aired areas.

Eye protection: Safety glasses.

Hand protection: Protecting gloves.

Skin protection: Avoid skin contact. Protective suit should be worn.

9. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

9.1 Information on basic physical and chemical properties

Color: light yellow to yellow

Appearance: oily liquid

Odor: fresh, cineol

pH-value: no data available

Flash point:	55°C
Water solubility:	Insoluble
Steam pressure:	Unavailable
Initial boiling point and boiling range:	Unavailable
Relative density at 20 °C:	0,892 - 0,905
Refractive index at 20°C:	1,49 - 1,505
Optical rotation at 20°C:	-10° to +10°

9.2 Other information:

Main components: Thymus Vulgaris Oil (Thyme Oil), Geraniol, Limonene, Linalool

10. STABILITY AND REACTIVITY

10.1 Reactivity

This product is stable under normal usage conditions.

10.2. Chemical stability

This product is stable under normal usage conditions.

10.3 Possibility of hazardous reactions

None according to our knowledge.

10.4 Conditions to avoid

Do not expose to high temperature or ignition.

10.5 Incompatible materials

Avoid flammable materials, PVC.

10.6 Hazardous decompositions products

Nothing in proper storage conditions.

11. TOXICOLOGICAL INFORMATION

11.1 Information on toxicological effects

Toxicological specifications of the important substances:

Chemical description	Oral LD50	Dermal LD50	Inhalation LC50
1,8-Cineol	2.480 mg/kg (rat)	-	-
alpha-Pinene	3.700 mg/kg (rat)	-	-
alpha-Terpineol	3.200 mg/kg (rat)	-	-
Borneol	4.300 mg/kg (rat)	> 3.000 mg/kg (rabbit)	-
Camphene	5.000 mg/kg (rat)	> 2.500 mg/kg (rabbit)	-
Camphor	1.310 mg/kg (mouse)	-	-
Carvacrol	-	-	-
gamma-Terpinene	3.650 mg/kg (rat)	-	-
Limonene	4.400 mg/kg (rat)	> 2.000 mg/kg (rabbit)	-
Linalool	2.790 mg/kg (rat)	5.610 mg/kg (rat)	-
Linalyl acetate	13.934 mg/kg (rat)	-	-
Myrcene	> 5.000 mg/kg (rat)	> 5.000 mg/kg (rabbit)	-
Paracymene	4.750 mg/kg (rat)	-	-
Terpinene-4-ol	-	-	-
Thymol	980 mg/kg (rat)	-	-

Skin corrosion/irritation:

H315 Causes skin irritation.

Serious eye damage/irritation:

No significant effects or critical hazards.

Respiratory or skin sensitization:

H317 May cause an allergic skin reaction.

Aspiration hazard:

No significant effects or critical hazards.

Germ cell mutagenicity:

No significant effects or critical hazards.

Carcinogenicity:

No significant effects or critical hazards.

Reproductive toxicity:

No significant effects or critical hazards.

STOT-single exposure

Unavailable data.

STOT-repeated exposure

Unavailable data.

Information on likely routes of exposure

Unavailable data.

Symptoms related to the physical, chemical and toxicological characteristics

Unavailable data.

Delayed and immediate effects as well as chronic effects from short and long-term exposure Unavailable data.**12. ECOLOGICAL INFORMATION****12.1 Toxicity**

Use product only referred of good laboratory practice (GLP) to insure that it is not released into the environment. According to regulation 1272/2008:

H411 Toxic to aquatic life with long lasting effects.

Daphnies toxicity (EC50):

No further relevant information available.

12.2 Persistence and degradability

No further relevant information available.

12.3 Bioaccumulative potential**Bioconcentration factor (BCF):**

No further relevant information available.

Partition coefficient n-octanol / water (log KOW)

No further relevant information available.

12.4 Mobility in soil

No further relevant information available.

12.5 Results of PBT and vPvB assessment

No further relevant information available.

12.6 Other adverse effects

No further relevant information available.

13. DISPOSAL CONSIDERATION**13.1 Waste treatment methods**

Waste should be recycled or disposed of according to the legislation in force, preferably by an approved recycling or waste treatment company.

14. TRANSPORT INFORMATION

14.1 UN-number

1169

14.2 UN proper shipping name

Land transport: ADR/RID; Dispatch Name: EXTRAKTE, AROMATISCH, FLÜSSIG
Transport by sea: IMDG/IMO; Technical Name: EXTRACTS, AROMATIC, LIQUID
Transport by air: ICAO/IATA; Technical Name: EXTRACTS, AROMATIC, LIQUID

14.3 Transport hazard class

ADR/RID: Class 3
IMDG/IMO: Class 3
ICAO/IATA: Class 3

14.4 Packing group

ADR/RID: Packing group III, Kemler code: 30
IMDG/IMO: Packing group III
ICAO/IATA: Packing group III

14.5 Environmental hazards

IMDG - Sea pollutant: Yes

14.6 Special precautions for user

Not applicable.

14.7 Transport in bulk according to Annex II of MARPOL 73/78 and IBC Code

Not applicable.

15. REGULATORY INFORMATION

15.1 Safety, health and environmental regulations (legislation) specific for the substance or mixture

Council Directive 67/548/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous substances and its subsequent amendments.

Directive 1999/45/EC of the European Parliament concerning the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous preparations and its subsequent amendments.

Council Directive 98/24/EC on the protection of the health and safety of workers from the risks related to chemical agents at work preparations.

Directive 2003/15/EC

Directive 2006/8/EC

Directive 91/322/EEC

Directive 2000/39/EC

Regulation (EC) No 1907/2006 (REACH) and its subsequent amendments

Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP) Regulation (EC) No 790/2009

Directive 2003/105/EC - Protection of workers - Control of major-accident hazards involving dangerous substances and its subsequent amendments

German Regulation on Substances Hazardous to Water 2005 (VwVwS),

15.2 Chemical safety assessment

Not relevant.

16. OTHER INFORMATION

Latest changes

This data sheet replaces all previous editions. The content of the MSDS is regulated by the Regulation (EC) n°1907/2006 (REACH).

Common shortened form:

ADR:	European Agreement concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road
CAS:	Chemical Abstracts Service (division of the American Chemical Society)
CLP:	Classification, Labeling, Packaging
EINECS:	European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances
FEMA:	Federal Emergency Management Agency
GHS:	Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals
IATA:	Dangerous Goods Regulation by the "International Air Transport Association" (IATA)
ICAO:	Technical Instructions by the "International Civil Aviation Organization" (ICAO)
IMDG:	International Maritime Code for Dangerous Goods
IMO:	International Maritime Organization
INCI:	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
LC50:	Lethal Concentration for 50 percent of the test population
LD50:	Lethal Dose for 50 percent of the test population
REACH:	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
PBT:	Persistent Bioaccumulating Toxicants
vPvB:	Very Persistent and Very Bioaccumulative Substance
RID:	Regulation Concerning the International Transport of Dangerous Goods by Rail
STOT:	Specific Target Organ Toxicity
TSCA:	Toxic Substances Control Act

Hazard statements according to regulation (EC) 1272/2008 (CLP):

Code	Description
H225	Highly flammable liquid and vapour.
H315	Causes skin irritation.
H317	May cause an allergic skin reaction.
H332	Harmful if inhaled.
H411	Toxic to aquatic life with long lasting effects.

Precaution statements according to regulation (EC) 1272/2008 (CLP):

Code	Description
<u>Prevention:</u>	
P210	Keep away from heat/sparks/open flames/hot surfaces. – No smoking.
P233	Keep container tightly closed.
P240	Ground/bond container and receiving equipment.
P241	Use explosion-proof electrical/ventilating/lighting/.../equipment.
P242	Use only non-sparking tools.
P243	Take precautionary measures against static discharge.
P261	Avoid breathing dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray.
P264	Wash thoroughly after handling.
P271	Use only outdoors or in a well-ventilated area.
P272	Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.
P273	Avoid release to the environment.
P280	Wear protective gloves / eye protection.

Response:

P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P303+P361+P353	IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower.
P304+P340	IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing.
P312	Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
P321	Specific treatment (see on this label).
P332+P313	If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
P362	Take off contaminated clothing and wash before reuse.
P363	Wash contaminated clothing before reuse.
P370+P378	In case of fire: Use CO2 for extinction.
P391	Collect spillage.

Storage:

P403+P235

Store in a well-ventilated place. Keep cool.

Disposal:

P501

Dispose of contents/container to special waste.

Training advice:

Possible hazards: see section 2

First aid measures: see section 4

Firefighting measures: see section 5

Personal protection equipment: see section 8

Waste treatment methods: see section 13

The information this contains is based on the state of our knowledge about the product concerned at the time of update. They are given in good faith. The information given is designed only as guidance for safe handling, use, processing, storage, transportation, disposal and release and is not to be considered a warranty or quality specification. The information relates only to the specific material designated and may not be valid for such material used in combination with any other Materials or in any process, unless specified in the text.

Even though precaution has been taken to ensure accuracy of data, no guarantee can be given. Because data's are taken partly from other sources.

<p>Created on: 22.03.2016 Page: 1 of 9</p>	<p>MATERIAL SAFETY DATA SHEET</p> <p>according to regulation (EC) 1907/2009 according to regulation (EU) 453/2010 2350 Oregano vulgare</p>	<p>AYUS GMBH</p> 
--	--	--

1. IDENTIFICATION OF THE SUBSTANCE AND OF THE COMPANY

1.1 Product identifier

Trade Name:	Oregano vulgare
Botanical Name:	Oreganum vulgare
INCI:	Oreganum vulgare Oil (Oregano vulgare Oil)
CAS TSCA-No:	84012-24-8
CAS EINECS-No:	84012-24-8
EINECS-No.:	281-670-3
FEMA-No.:	/

1.2 Relevant identified uses of the substance and uses advised against

Substance use: Perfumery and/or aromatic uses

1.3 Details of the supplier of the safety data sheet

Supplier name:	AYUS GmbH
Address:	Am Dreschschofp 1
Phone:	+49 7227 600 99-0
Fax:	+49 7227 600 99-99
E-mail:	info@oshadhi.eu

1.4 Emergency telephone number

Poison emergency number: 089-19240



2. HAZARDS IDENTIFICATION

2.1 Classification of the substance according to regulation (EG) 1272/2008 (CLP)

Hazard class and Hazard category	Code	Hazard statement
Acute Toxicity, category 4 - oral	H302	Harmful if swallowed.
Aspiration hazard, category 1	H304	May be fatal if swallowed and enters airways.
Acute Toxicity, category 4 - dermal	H312	Harmful in contact with skin.
Skin corrosion/irritation, category 2	H315	Causes skin irritation.
Respiratory/skin sensitisation, skin sensitisation category 1	H317	May cause an allergic skin reaction.
Causes serious eye damage/irritation, category 2	H319	Causes serious eye irritation.
Hazardous to the aquatic environment, chronic category 3	H412	Harmful to aquatic life with long lasting effects.

2.2 Label elements

Hazard pictogram and signal word

			
---	---	--	--

DANGER:**H-Statements:**

H302	Harmful if swallowed.
H304	May be fatal if swallowed and enters airways.
H312	Harmful in contact with skin.
H315	Causes skin irritation.
H317	May cause an allergic skin reaction.
H319	Causes serious eye irritation.
H412	Harmful to aquatic life with long lasting effects.

P-Statements:**Prevention:**

P261	Avoid breathing dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray.
P264	Wash thoroughly after handling.
P270	Do not eat, drink or smoke when using this product.
P272	Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.
P273	Avoid release to the environment.
P280	Wear protective gloves / eye protection.

Response:

P301+P310	IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician.
P301+P312	IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P305+P351+P338	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P312	Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
P321	Specific treatment (see on this label).
P322	Specific measures (see on this label).
P330	Rinse mouth.
P331	Do NOT induce vomiting.
P332+P313	If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
P337+P313	If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
P362	Take off contaminated clothing and wash before reuse.
P363	Wash contaminated clothing before reuse.

Storage:

P405	Store locked up.
------	------------------

Disposal:

P501	Dispose of contents/container to special waste.
------	---

2.3 Other Hazards

Allergens (according to regulation (EC) No 1223/2009 on cosmetic products)

Linalool	~ 1,6 %
Limonene	~ 2,0 %

3. COMPOSITION / INFORMATION ON INGREDIENTS**3.1 Substances**

Chemical Identification: Oreganum vulgare oil (100% natural essential oil)

Hazardous constituent: according to EG-Regulation 1272/2008 (CLP)

Ingredient	Concentration	Registration-N.	CLP-Classification
alpha-Terpinene	~ 5,8 %	CAS-No: 99-86-5 EINECS-No: 202-795-1	Flam. Liq. 3, H226 Acute Tox. 4, H302 Asp. Tox. 1, H304 Aquatic Chronic 2, H411

alpha-Terpineol	~ 2,6 %	CAS-No: 98-55-5 EINECS-No: 202-680-6	Org. Perox. EF, H242-3 Skin Irrit. 2, H315 Eye Irrit. 2, H319
beta-Caryophyllene	~ 2,0 %	CAS-No: 87-44-5 EINECS-No: 201-746-1	Asp. Tox. 1, H304
Carvacrol	~ 18,0 %	CAS-No: 499-75-2 EINECS-No: 207-889-6	Acute Tox. 4, H302 Skin Irrit. 2, H315 Skin Sens. 1, H317 Eye Irrit. 2, H319
gamma-Terpinene	~ 10,0 %	CAS-No: 99-85-4 EINECS-No: 202-794-6	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304
Limonene	~ 2,0 %	CAS-No: 5989-27-5 EINECS-No: 227-813-5	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304 Skin Irrit. 2, H315 Skin Sens. 1, H317 Aquatic Chronic 1, H410
Linalool	~ 1,6 %	CAS-No: 78-70-6 EINECS-No: 201-134-4	Skin Irrit. 2, H315
Myrcene	~ 1,7 %	CAS-No: 123-35-3 EINECS-No: 204-622-5	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304 Aquatic Chronic 3, H412
Paracymene	~ 1,8 %	CAS-No: 99-87-6 EINECS-No: 202-796-7	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304 Aquatic Chronic 2, H411
Sabinene	~ 4,0 %	CAS-No: 3387-41-5 EINECS-No: 222-212-4	Flam. Liq. 3, H226 Skin Irrit. 2, H315 Eye Irrit. 2, H319 STOT SE 3, H335
Terpinene-4-ol	~ 16,0 %	CAS-No: 562-74-3 EINECS-No: 209-235-5	Acute Tox. 4, H302 Skin Irrit. 2, H315
Terpinolene	~ 2,0 %	CAS-No: 586-62-9 EINECS-No: 209-578-0	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304 Aquatic Chronic 2, H411

4. FIRST AID MEASURES

4.1 Description of first aid measures

Excessive inhalation:	Remove to fresh air environment – summon a physician immediately.
Skin contact:	Wash contaminated skin with copious amounts of water and soap. Remove contaminated clothes and wash them before reuse. Summon a physician, if an irritation appears.
Eye contact:	Wash contaminated skin with copious amounts of water for at least 10 minutes – open eyelids forcibly. Summon a physician immediately.
Ingestion:	Dilute with water. Do not induce vomiting. Contact physician.

4.2 Most important symptoms and effects, both acute and delayed

No further details.

4.3 Indication of any immediate medical attention and special treatment needed

Contact a poison specialist immediately if large quantities have been ingested or inhaled.

5. FIREFIGHTING MEASURES

5.1 Extinguishing media

Advised extinguisher:	Use CO ₂ , dry powder, fire extinguisher or foam.
Unadvisable extinguisher:	Direct jet of water.

5.2 Special hazards arising from the substance or mixture

Avoid breathing vapours and smokes produced by fire.

Burning will cause strong smoke and soot.

5.3 Advice for firefighters

Do not attempt to fight the fire with water, which tends to feed rather than smother the flames. Essential oils have the ability to float on water and this causes the fire to propagate more quickly. Small fires can be smothered by covering with earth, sand or a blanket.

6. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency procedures

Avoid skin, eye and clothes contact. There is a risk of sliding caused by the leaked product. Ventilate well spilling area. Keep away from sources of ignition.

6.2 Environmental precautions

Avoid dispose into drainage, sewer system or in any natural environment. Dispose binding material, cloths and sponges according to the national law.

6.3 Methods and material for containment and cleaning up

Use of absorbent material (e.g. sand, diatomaceous earth).

6.4 Reference to other sections

Please see section 8 and 13.

7. HANDLING AND STORAGE

7.1 Precautions for safe handling

Ventilate the storage and preparation warehouse/laboratory. Avoid eating, drinking and smoking in the places where products are stored and treated. Manipulate with caution to avoid any projection particularly in eyes and on mucous membranes. Do not expose vapors to the flame or quite other source of ignition. Do not inhale warm vapors.

7.2 Conditions for safe storage, including any incompatibilities

It is recommended to keep the product in a water-tight and air-tight container. Keep away from heat and sunlight. Store in a cool and good ventilated area.

7.3 Specific end uses

No specific.

8. EXPOSURE CONTROLS / PERSONAL PROTECTION

8.1. Control parameters

Please pay attention to the usual precautionary measures with the contact of essential oils. Use good hygiene practice: Please wash before contact, before eating and at the end of the working day.

8.2 Exposure controls

Personal protective equipment:

Breathing protection:	Use in well aired areas.
Eye protection:	Safety glasses.
Hand protection:	Protecting gloves.
Skin protection:	Avoid skin contact. Protective suit should be worn.

9. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

9.1 Information on basic physical and chemical properties

Color:	light yellow to orange
Appearance:	oily liquid
Odor:	characteristic
pH-value:	no data available
Flash point:	63°C
Water solubility:	Insoluble
Steam pressure:	Unavailable
Initial boiling point and boiling range:	Unavailable
Relative density at 20 °C:	0,88 - 0,98
Refractive index at 20°C:	1,491 - 1,524
Optical rotation at 20°C:	-5° to +5°

9.2 Other information:

Main components: Oreganum vulgare Oil (Oregano vulgare Oil), Limonene, Linalool

10. STABILITY AND REACTIVITY**10.1 Reactivity**

This product is stable under normal usage conditions.

10.2. Chemical stability

This product is stable under normal usage conditions.

10.3 Possibility of hazardous reactions

None according to our knowledge.

10.4 Conditions to avoid

Do not expose to high temperature or ignition.

10.5 Incompatible materials

Avoid flammable materials, PVC.

10.6 Hazardous decompositions products

Nothing in proper storage conditions.

11. TOXICOLOGICAL INFORMATION**11.1 Information on toxicological effects**

Toxicological specifications of the important substances:

Chemical description	Oral LD50	Dermal LD50	Inhalation LC50
alpha-Terpinene	-	-	-
alpha-Terpineol	3.200 mg/kg (rat)	-	-
beta-Caryophyllene	-	-	-
Carvacrol	-	-	-
gamma-Terpinene	3.650 mg/kg (rat)	-	-
Limonene	4.400 mg/kg (rat)	> 2.000 mg/kg (rabbit)	-
Linalool	2.790 mg/kg (rat)	5.610 mg/kg (rat)	-
Myrcene	> 5.000 mg/kg (rat)	> 5.000 mg/kg (rabbit)	-
Paracymene	4.750 mg/kg (rat)	-	-
Sabinene	-	-	-
Terpinene-4-ol	-	-	-
Terpinolene	4.390 mg/kg (rat)	-	-

Skin corrosion/irritation:

H315 Causes skin irritation.

Serious eye damage/irritation:

H319 Causes serious eye irritation.

Respiratory or skin sensitization:

H302 Harmful if swallowed.

H317 May cause an allergic skin reaction.

Aspiration hazard:

H304 May be fatal if swallowed and enters airways.

Germ cell mutagenicity:

No significant effects or critical hazards.

Carcinogenicity:

No significant effects or critical hazards.

Reproductive toxicity:

No significant effects or critical hazards.

STOT-single exposure

Unavailable data.

STOT-repeated exposure

Unavailable data.

Information on likely routes of exposure

Unavailable data.

Symptoms related to the physical, chemical and toxicological characteristics

Unavailable data.

Delayed and immediate effects as well as chronic effects from short and long-term exposure

Unavailable data.

12. ECOLOGICAL INFORMATION**12.1 Toxicity**

Use product only referred of good laboratory practice (GLP) to insure that it is not released into the environment. According to regulation 1272/2008:

H412 Harmful to aquatic life with long lasting effects.

Daphnies toxicity (EC50):

No further relevant information available.

12.2 Persistence and degradability

No further relevant information available.

12.3 Bioaccumulative potential**Bioconcentration factor (BCF):**

No further relevant information available.

Partition coefficient n-octanol / water (log KOW)

No further relevant information available.

12.4 Mobility in soil

No further relevant information available.

12.5 Results of PBT and vPvB assessment

No further relevant information available.

12.6 Other adverse effects

No further relevant information available.

13. DISPOSAL CONSIDERATION**13.1 Waste treatment methods**

Waste should be recycled or disposed of according to the legislation in force, preferably by an approved recycling or waste treatment company.

14. TRANSPORT INFORMATION**14.1 UN-number**

2810

14.2 UN proper shipping name

Land transport: ADR/RID; Dispatch Name: EXTRAKTE, AROMATISCH, FLÜSS IG

Transport by sea: IMDG/IMO; Technical Name: EXTRACTS, AROMATIC, LIQUID

Transport by air: ICAO/IATA; Technical Name: EXTRACTS, AROMATIC, LIQUID

14.3 Transport hazard class

ADR/RID: Class 3
IMDG/IMO: Class 3
ICAO/IATA: Class 3

14.4 Packing group

ADR/RID: Packing group III, Kemler code: 30
IMDG/IMO: Packing group III
ICAO/IATA: Packing group III

14.5 Environmental hazards

IMDG - Sea pollutant: No

14.6 Special precautions for user

Not applicable.

14.7 Transport in bulk according to Annex II of MARPOL 73/78 and IBC Code

Not applicable.

15. REGULATORY INFORMATION

15.1 Safety, health and environmental regulations (legislation) specific for the substance or mixture

Council Directive 67/548/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous substances and its subsequent amendments.

Directive 1999/45/EC of the European Parliament concerning the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous preparations and its subsequent amendments.

Council Directive 98/24/EC on the protection of the health and safety of workers from the risks related to chemical agents at work preparations.

Directive 2003/15/EC

Directive 2006/8/EC

Directive 91/322/EEC

Directive 2000/39/EC

Regulation (EC) No 1907/2006 (REACH) and its subsequent amendments

Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP) Regulation (EC) No 790/2009

Directive 2003/105/EC - Protection of workers - Control of major-accident hazards involving dangerous substances and its subsequent amendments

German Regulation on Substances Hazardous to Water 2005 (VwVwS),

15.2 Chemical safety assessment

Not relevant.

16. OTHER INFORMATION

Latest changes

This data sheet replaces all previous editions. The content of the MSDS is regulated by the Regulation (EC) n°1907/2006 (REACH).

Common shortened form:

ADR: European Agreement concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road
CAS: Chemical Abstracts Service (division of the American Chemical Society)
CLP: Classification, Labeling, Packaging
EINECS: European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances
FEMA: Federal Emergency Management Agency
GHS: Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals
IATA: Dangerous Goods Regulation by the "International Air Transport Association" (IATA)
ICAO: Technical Instructions by the "International Civil Aviation Organization" (ICAO)
IMDG: International Maritime Code for Dangerous Goods
IMO: International Maritime Organization

INCI:	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
LC50:	Lethal Concentration for 50 percent of the test population
LD50:	Lethal Dose for 50 percent of the test population
REACH:	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
PBT:	Persistent Bioaccumulating Toxicants
vPvB:	Very Persistent and Very Bioaccumulative Substance
RID:	Regulation Concerning the International Transport of Dangerous Goods by Rail
STOT:	Specific Target Organ Toxicity
TSCA:	Toxic Substances Control Act

Hazard statements according to regulation (EC) 1272/2008 (CLP):

Code	Description
H302	Harmful if swallowed.
H304	May be fatal if swallowed and enters airways.
H312	Harmful in contact with skin.
H315	Causes skin irritation.
H317	May cause an allergic skin reaction.
H319	Causes serious eye irritation.
H412	Harmful to aquatic life with long lasting effects.

Precaution statements according to regulation (EC) 1272/2008 (CLP):

Code	Description
<u>Prevention:</u>	
P261	Avoid breathing dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray.
P264	Wash thoroughly after handling.
P270	Do not eat, drink or smoke when using this product.
P272	Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.
P273	Avoid release to the environment.
P280	Wear protective gloves / eye protection.

Response:

P301+P310	IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician.
P301+P312	IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P305+P351+P338	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P312	Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
P321	Specific treatment (see on this label).
P322	Specific measures (see on this label).
P330	Rinse mouth.
P331	Do NOT induce vomiting.
P332+P313	If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
P337+P313	If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
P362	Take off contaminated clothing and wash before reuse.
P363	Wash contaminated clothing before reuse.

Storage:

P405 Store locked up.


Disposal:

P501 Dispose of contents/container to special waste.

Training advice:

Possible hazards:	see section 2
First aid measures:	see section 4
Firefighting measures:	see section 5
Personal protection equipment:	see section 8
Waste treatment methods:	see section 13

The information this contains is based on the state of our knowledge about the product concerned at the time of update. They are given in good faith. The information given is designed only as guidance for safe handling, use, processing, storage, transportation, disposal and release and is not to be considered a warranty or quality specification. The information relates only to the specific material designated and may not be valid for such material used in combination with any other Materials or in any process, unless specified in the text. Even though precaution has been taken to ensure accuracy of data, no guarantee can be given. Because data's are taken partly from other sources.

<p>Created on: 22.03.2016 Page: 1 of 7</p>	<p>MATERIAL SAFETY DATA SHEET</p> <p>according to regulation (EC) 1907/2009 according to regulation (EU) 453/2010 2250 Clove Bud Organic</p>	<p>AYUS GMBH</p> 
--	--	--

1. IDENTIFICATION OF THE SUBSTANCE AND OF THE COMPANY

1.1 Product identifier

Trade Name:	Clove Bud Organic
Botanical Name:	Eugenia caryophyllata
INCI:	Eugenia caryophyllus (Clove) Flower Oil
CAS TSCA-No:	8000-34-8
CAS EINECS-No:	84961-50-2
EINECS-No.:	284-638-7
FEMA-No.:	2323

1.2 Relevant identified uses of the substance and uses advised against

Substance use:	Perfumery and/or aromatic uses
----------------	--------------------------------

1.3 Details of the supplier of the safety data sheet

Supplier name:	AYUS GmbH
Address:	Am Dreschschoopf 1
Phone:	+49 7227 600 99-0
Fax:	+49 7227 600 99-99
E-mail:	info@oshadhi.eu

1.4 Emergency telephone number

Poison emergency number: 089-19240


2. HAZARDS IDENTIFICATION

2.1 Classification of the substance according to regulation (EG) 1272/2008 (CLP)

Hazard class and Hazard category	Code	Hazard statement
Skin corrosion/irritation, category 2	H315	Causes skin irritation.
Causes serious eye damage/irritation, category 2	H319	Causes serious eye irritation.
Specific Target Organ Systemic Toxicity (single exposure), category 3 Eye irritation	H335	May cause respiratory irritation.

2.2 Label elements

Hazard pictogram and signal word

			
---	--	--	--

WARNING:

H-Statements:

H315	Causes skin irritation.
H319	Causes serious eye irritation.
H335	May cause respiratory irritation.

P-Statements:

Prevention:

P261	Avoid breathing dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray.
P264	Wash thoroughly after handling.
P271	Use only outdoors or in a well-ventilated area.
P280	Wear protective gloves / eye protection.

Response:

P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P304+P340	IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing.
P305+P351+P338	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P312	Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
P321	Specific treatment (see on this label).
P332+P313	If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.
P337+P313	If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
P362	Take off contaminated clothing and wash before reuse.

Storage:

P403+P233	Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed.
P405	Store locked up.

Disposal:

P501	Dispose of contents/container to special waste.
------	---

2.3 Other Hazards

Allergens (according to regulation (EC) No 1223/2009 on cosmetic products)

Eugenol	max. 87,0 %
---------	-------------

3. COMPOSITION / INFORMATION ON INGREDIENTS**3.1 Substances**

Chemical Identification: Eugenia caryophyllata oil (100% natural essential oil)

Hazardous constituent: according to EG-Regulation 1272/2008 (CLP)

Ingredient	Concentration	Registration-N.	CLP-Classification
beta-Caryophyllene	< 7,0 %	CAS-No: 87-44-5 EINECS-No: 201-746-1	Asp. Tox. 1, H304
Eugenol	< 87,0 %	CAS-No: 97-53-0 EINECS-No: 202-589-1	Skin Sens. 1, H317 Eye Irrit. 2, H319
Eugenyl acetate	< 15,0 %	CAS-No: 93-28-7 EINECS-No: 202-235-6	Acute Tox. 4, H302

4. FIRST AID MEASURES**4.1 Description of first aid measures**

Excessive inhalation:	Remove to fresh air environment – summon a physician immediately.
Skin contact:	Wash contaminated skin with copious amounts of water and soap. Remove contaminated clothes and wash them before reuse. Summon a physician, if an irritation appears.
Eye contact:	Wash contaminated skin with copious amounts of water for at least 10 minutes – open eyelids forcibly. Summon a physician immediately.
Ingestion:	Dilute with water. Do not induce vomiting. Contact physician.

4.2 Most important symptoms and effects, both acute and delayed

No further details.

4.3 Indication of any immediate medical attention and special treatment needed

Contact a poison specialist immediately if large quantities have been ingested or inhaled.

5. FIREFIGHTING MEASURES**5.1 Extinguishing media**

Advised extinguisher: Use CO₂, dry powder, fire extinguisher or foam.

Unadvisable extinguisher: Direct jet of water.

5.2 Special hazards arising from the substance or mixture

Avoid breathing vapours and smokes produced by fire.

Burning will cause strong smoke and soot.

5.3 Advice for firefighters

Do not attempt to fight the fire with water, which tends to feed rather than smother the flames. Essential oils have the ability to float on water and this causes the fire to propagate more quickly. Small fires can be smothered by covering with earth, sand or a blanket.

6. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency procedures

Avoid skin, eye and clothes contact. There is a risk of sliding caused by the leaked product. Ventilate well spilling area. Keep away from sources of ignition.

6.2 Environmental precautions

Avoid dispose into drainage, sewer system or in any natural environment. Dispose binding material, cloths and sponges according to the national law.

6.3 Methods and material for containment and cleaning up

Use of absorbent material (e.g. sand, diatomaceous earth).

6.4 Reference to other sections

Please see section 8 and 13.

7. HANDLING AND STORAGE

7.1 Precautions for safe handling

Ventilate the storage and preparation warehouse/laboratory. Avoid eating, drinking and smoking in the places where products are stored and treated. Manipulate with caution to avoid any projection particularly in eyes and on mucous membranes. Do not expose vapors to the flame or quite other source of ignition. Do not inhale warm vapors.

7.2 Conditions for safe storage, including any incompatibilities

It is recommended to keep the product in a water-tight and air-tight container. Keep away from heat and sunlight. Store in a cool and good ventilated area.

7.3 Specific end uses

No specific.

8. EXPOSURE CONTROLS / PERSONAL PROTECTION

8.1. Control parameters

Please pay attention to the usual precautionary measures with the contact of essential oils. Use good hygiene practice: Please wash before contact, before eating and at the end of the working day.

8.2 Exposure controls

Personal protective equipment:

Breathing protection:	Use in well aired areas.
Eye protection:	Safety glasses.
Hand protection:	Protecting gloves.
Skin protection:	Avoid skin contact. Protective suit should be worn.

9. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

9.1 Information on basic physical and chemical properties

Color:	light-yellow to light-brown
Appearance:	oily liquid
Odor:	spicy, typical eugenol
pH-value:	no data available
Flash point:	115°C

Water solubility:	Insoluble
Steam pressure:	Unavailable
Initial boiling point and boiling range:	Unavailable
Relative density at 20 °C:	1,03 - 1,055
Refractive index at 20°C:	1,528 - 1,537
Optical rotation at 20°C:	+3° to -4°

9.2 Other information:

Main components: Eugenia caryophyllus (Clove) Flower Oil, Eugenol

10. STABILITY AND REACTIVITY

10.1 Reactivity

This product is stable under normal usage conditions.

10.2. Chemical stability

This product is stable under normal usage conditions.

10.3 Possibility of hazardous reactions

None according to our knowledge.

10.4 Conditions to avoid

Do not expose to high temperature or ignition.

10.5 Incompatible materials

Avoid flammable materials, PVC.

10.6 Hazardous decompositions products

Nothing in proper storage conditions.

11. TOXICOLOGICAL INFORMATION

11.1 Information on toxicological effects

Toxicological specifications of the important substances:

Chemical description	Oral LD50	Dermal LD50	Inhalation LC50
beta-Caryophyllene	-	-	-
Eugenol	1.930 mg/kg (rat)	-	-
Eugenyl acetate	1.670 mg/kg (rat)	> 5.000 mg/kg (rabbit)	-

Skin corrosion/irritation:

H315 Causes skin irritation.

Serious eye damage/irritation:

H319 Causes serious eye irritation.

Respiratory or skin sensitization:

No significant effects or critical hazards.

Aspiration hazard:

H335 May cause respiratory irritation.

Germ cell mutagenicity:

No significant effects or critical hazards.

Carcinogenicity:

No significant effects or critical hazards.

Reproductive toxicity:

No significant effects or critical hazards.

STOT-single exposure

Unavailable data.

STOT-repeated exposure

Unavailable data.

Information on likely routes of exposure

Unavailable data.

Symptoms related to the physical, chemical and toxicological characteristics

Unavailable data.

Delayed and immediate effects as well as chronic effects from short and long-term exposure

Unavailable data.

12. ECOLOGICAL INFORMATION**12.1 Toxicity**

Use product only referred of good laboratory practice (GLP) to insure that it is not released into the environment. According to regulation 1272/2008:

No significant effects or critical hazards.

Daphnies toxicity (EC50):

No further relevant information available.

12.2 Persistence and degradability

No further relevant information available.

12.3 Bioaccumulative potential**Bioconcentration factor (BCF):**

No further relevant information available.

Partition coefficient n-octanol / water (log KOW)

No further relevant information available.

12.4 Mobility in soil

No further relevant information available.

12.5 Results of PBT and vPvB assessment

No further relevant information available.

12.6 Other adverse effects

No further relevant information available.

13. DISPOSAL CONSIDERATION**13.1 Waste treatment methods**

Waste should be recycled or disposed of according to the legislation in force, preferably by an approved recycling or waste treatment company.

14. TRANSPORT INFORMATION**14.1 UN-number**

n.r.

14.2 UN proper shipping name

Land transport: ADR/RID; Dispatch Name: EXTRAKTE, AROMATISCH, FLÜSS IG

Transport by sea: IMDG/IMO; Technical Name: EXTRACTS, AROMATIC, LIQUID

Transport by air: ICAO/IATA; Technical Name: EXTRACTS, AROMATIC, LIQUID

14.3 Transport hazard class

ADR/RID:	Class 3
IMDG/IMO:	Class 3
ICAO/IATA:	Class 3

14.4 Packing group

ADR/RID:	Packing group III, Kemler code: 30
IMDG/IMO:	Packing group III
ICAO/IATA:	Packing group III

14.5 Environmental hazards

IMDG - Sea pollutant: No

14.6 Special precautions for user

Not applicable.

14.7 Transport in bulk according to Annex II of MARPOL 73/78 and IBC Code

Not applicable.

15. REGULATORY INFORMATION

15.1 Safety, health and environmental regulations (legislation) specific for the substance or mixture

Council Directive 67/548/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous substances and its subsequent amendments.

Directive 1999/45/EC of the European Parliament concerning the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous preparations and its subsequent amendments.

Council Directive 98/24/EC on the protection of the health and safety of workers from the risks related to chemical agents at work preparations.

Directive 2003/15/EC

Directive 2006/8/EC

Directive 91/322/EEC

Directive 2000/39/EC

Regulation (EC) No 1907/2006 (REACH) and its subsequent amendments

Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP) Regulation (EC) No 790/2009

Directive 2003/105/EC - Protection of workers - Control of major-accident hazards involving dangerous substances and its subsequent amendments

German Regulation on Substances Hazardous to Water 2005 (VwVwS),

15.2 Chemical safety assessment

Not relevant.

16. OTHER INFORMATION

Latest changes

This data sheet replaces all previous editions. The content of the MSDS is regulated by the Regulation (EC) n°1907/2006 (REACH).

Common shortened form:

ADR:	European Agreement concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road
CAS:	Chemical Abstracts Service (division of the American Chemical Society)
CLP:	Classification, Labeling, Packaging
EINECS:	European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances
FEMA:	Federal Emergency Management Agency
GHS:	Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals
IATA:	Dangerous Goods Regulation by the "International Air Transport Association" (IATA)
ICAO:	Technical Instructions by the "International Civil Aviation Organization" (ICAO)
IMDG:	International Maritime Code for Dangerous Goods
IMO:	International Maritime Organization
INCI:	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
LC50:	Lethal Concentration for 50 percent of the test population
LD50:	Lethal Dose for 50 percent of the test population

REACH:
 PBT:
 vPvB:
 RID:
 STOT:
 TSCA:

Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
 Persistent Bioaccumulating Toxicants
 Very Persistent and Very Bioaccumulative Substance
 Regulation Concerning the International Transport of Dangerous Goods by Rail
 Specific Target Organ Toxicity
 Toxic Substances Control Act

Hazard statements according to regulation (EC) 1272/2008 (CLP):

Code	Description
H315	Causes skin irritation.
H319	Causes serious eye irritation.
H335	May cause respiratory irritation.

Precaution statements according to regulation (EC) 1272/2008 (CLP):

Code	Description
Prevention:	
P261	Avoid breathing dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray.
P264	Wash thoroughly after handling.
P271	Use only outdoors or in a well-ventilated area.
P280	Wear protective gloves / eye protection.

Response:

P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P304+P340	IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing.
P305+P351+P338	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P312	Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
P321	Specific treatment (see on this label).
P332+P313	If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.
P337+P313	If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
P362	Take off contaminated clothing and wash before reuse.

Storage:

P403+P233	Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed.
P405	Store locked up.

Disposal:


P501	Dispose of contents/container to special waste.
------	---

Training advice:

Possible hazards:	see section 2
First aid measures:	see section 4
Firefighting measures:	see section 5
Personal protection equipment:	see section 8
Waste treatment methods:	see section 13

The information this contains is based on the state of our knowledge about the product concerned at the time of update. They are given in good faith. The information given is designed only as guidance for safe handling, use, processing, storage, transportation, disposal and release and is not to be considered a warranty or quality specification. The information relates only to the specific material designated and may not be valid for such material used in combination with any other Materials or in any process, unless specified in the text.

Even though precaution has been taken to ensure accuracy of data, no guarantee can be given. Because data's are taken partly from other sources.

<p>Created on: 22.03.2016 Page: 1 of 8</p>	<p>MATERIAL SAFETY DATA SHEET</p> <p>according to regulation (EC) 1907/2009 according to regulation (EU) 453/2010 1615 Ginger Organic</p>	<p>AYUS GMBH</p> 
--	---	--

1. IDENTIFICATION OF THE SUBSTANCE AND OF THE COMPANY

1.1 Product identifier

Trade Name:	Ginger Organic
Botanical Name:	Zingiber officinalis
INCI:	Zingiber officinalis Oil (Ginger Oil)
CAS TSCA-No:	8007-08-7
CAS EINECS-No:	84696-15-1
EINECS-No.:	283-634-2
FEMA-No.:	2522

1.2 Relevant identified uses of the substance and uses advised against

Substance use: Perfumery and/or aromatic uses

1.3 Details of the supplier of the safety data sheet

Supplier name:	AYUS GmbH
Address:	Am Dreschschofp 1
Phone:	+49 7227 600 99-0
Fax:	+49 7227 600 99-99
E-mail:	info@oshadhi.eu

1.4 Emergency telephone number

Poison emergency number: 089-19240



2. HAZARDS IDENTIFICATION

2.1 Classification of the substance according to regulation (EG) 1272/2008 (CLP)

Hazard class and Hazard category	Code	Hazard statement
Aspiration hazard, category 1	H304	May be fatal if swallowed and enters airways.
Respiratory/skin sensitisation, skin sensitisation category 1	H317	May cause an allergic skin reaction.
Hazardous to the aquatic environment, chronic category 3	H412	Harmful to aquatic life with long lasting effects.

2.2 Label elements

Hazard pictogram and signal word

			
---	---	--	--

DANGER:

H-Statements:

H304	May be fatal if swallowed and enters airways.
H317	May cause an allergic skin reaction.
H412	Harmful to aquatic life with long lasting effects.

P-Statements:

Prevention:

P261	Avoid breathing dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray.
P272	Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.
P273	Avoid release to the environment.
P280	Wear protective gloves / eye protection.

Response:

P301+P310	IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P321	Specific treatment (see on this label).
P331	Do NOT induce vomiting.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
P363	Wash contaminated clothing before reuse.

Storage:

P405	Store locked up.
------	------------------

Disposal:

P501	Dispose of contents/container to special waste.
------	---

2.3 Other Hazards

Allergens (according to regulation (EC) No 1223/2009 on cosmetic products)

Linalool	max. 0,6 %
Limonene	max. 1,9 %
Geraniol	max. 1,0 %
Citral	max. 3,0 %

3. COMPOSITION / INFORMATION ON INGREDIENTS**3.1 Substances**

Chemical Identification: Zingiber officinalis oil (100% natural essential oil)

Hazardous constituent: according to EG-Regulation 1272/2008 (CLP)

Ingredient	Concentration	Registration-N.	CLP-Classification
1,8-Cineol	< 5,0 %	CAS-No: 470-82-6 EINECS-No: 207-431-5	Flam. Liq. 3, H226
alpha-Pinene	< 4,0 %	CAS-No: 80-56-8 EINECS-No: 201-291-9	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304 Skin Sens. 1, H317 Aquatic Chronic 1, H410
alpha-Terpineol	< 3,0 %	CAS-No: 98-55-5 EINECS-No: 202-680-6	Org. Perox. EF, H242-3 Skin Irrit. 2, H315 Eye Irrit. 2, H319
beta-Bisabolene	< 9,0 %	CAS-No: 495-61-4 EINECS-No: /	Asp. Tox. 1, H304 Skin Irrit. 2, H315 Skin Sens. 1, H317
beta-Phellandrene	< 5,0 %	CAS-No: 555-10-2 EINECS-No: 209-081-9	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304
Borneol	< 3,0 %	CAS-No: 507-70-0 EINECS-No: 208-080-0	Flam. Sol. 2, H228-1
Camphene	< 10,0 %	CAS-No: 79-92-5 EINECS-No: 201-234-8	Flam. Sol. 2, H228-1 Eye Irrit. 2, H319 Aquatic Acute 1, H400 Aquatic Chronic 1, H410
Citral (Neral + Geranial)	< 3,0 %	CAS-No: 5392-40-5 EINECS-No: 226-394-6	Skin Irrit. 2, H315 Skin Sens. 1, H317
Geranyl acetate	< 2,0 %	CAS-No: 105-87-3 EINECS-No: 203-341-5	Aquatic Chronic 2, H411
Limonene	< 1,9 %	CAS-No: 5989-27-5 EINECS-No: 227-813-5	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304 Skin Irrit. 2, H315

			Skin Sens. 1, H317 Aquatic Chronic 1, H410
Methyl-6-hepten-5-one 2	< 2,0 %	CAS-No: 110-93-0 EINECS-No: 203-816-7	Flam. Liq. 3, H226
Myrcene	< 3,0 %	CAS-No: 123-35-3 EINECS-No: 204-622-5	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304 Aquatic Chronic 3, H412
Paracymene	< 4,0 %	CAS-No: 99-87-6 EINECS-No: 202-796-7	Flam. Liq. 3, H226 Asp. Tox. 1, H304 Aquatic Chronic 2, H411

4. FIRST AID MEASURES

4.1 Description of first aid measures

- Excessive inhalation:** Remove to fresh air environment – summon a physician immediately.
- Skin contact:** Wash contaminated skin with copious amounts of water and soap. Remove contaminated clothes and wash them before reuse. Summon a physician, if an irritation appears.
- Eye contact:** Wash contaminated skin with copious amounts of water for at least 10 minutes – open eyelids forcibly. Summon a physician immediately.
- Ingestion:** Dilute with water. Do not induce vomiting. Contact physician.

4.2 Most important symptoms and effects, both acute and delayed

No further details.

4.3 Indication of any immediate medical attention and special treatment needed

Contact a poison specialist immediately if large quantities have been ingested or inhaled.

5. FIREFIGHTING MEASURES

5.1 Extinguishing media

- Advised extinguisher:** Use CO₂, dry powder, fire extinguisher or foam.
- Unadvisable extinguisher:** Direct jet of water.

5.2 Special hazards arising from the substance or mixture

Avoid breathing vapours and smokes produced by fire.
Burning will cause strong smoke and soot.
Vapors may form explosive mixtures with air.
Containers may explode with the heat of fire.

5.3 Advice for firefighters

Do not attempt to fight the fire with water, which tends to feed rather than smother the flames. Essential oils have the ability to float on water and this causes the fire to propagate more quickly. Small fires can be smothered by covering with earth, sand or a blanket.

6. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency procedures

Avoid skin, eye and clothes contact. There is a risk of sliding caused by the leaked product. Ventilate well spilling area. Keep away from sources of ignition.

6.2 Environmental precautions

Avoid dispose into drainage, sewer system or in any natural environment. Dispose binding material, cloths and sponges according to the national law.

6.3 Methods and material for containment and cleaning up

Use of absorbent material (e.g. sand, diatomaceous earth).

6.4 Reference to other sections

Please see section 8 and 13.

7. HANDLING AND STORAGE

7.1 Precautions for safe handling

Ventilate the storage and preparation warehouse/laboratory. Avoid eating, drinking and smoking in the places where products are stored and treated. Manipulate with caution to avoid any projection particularly in eyes and on mucous membranes. Do not expose vapors to the flame or quite other source of ignition. Do not inhale warm vapors.

7.2 Conditions for safe storage, including any incompatibilities

It is recommended to keep the product in a water-tight and air-tight container. Keep away from heat and sunlight. Store in a cool and good ventilated area.

7.3 Specific end uses

No specific.

8. EXPOSURE CONTROLS / PERSONAL PROTECTION

8.1. Control parameters

Please pay attention to the usual precautionary measures with the contact of essential oils. Use good hygiene practice: Please wash before contact, before eating and at the end of the working day.

8.2 Exposure controls

Personal protective equipment:

Breathing protection: Use in well aired areas.

Eye protection: Safety glasses.

Hand protection: Protecting gloves.

Skin protection: Avoid skin contact. Protective suit should be worn.

9. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

9.1 Information on basic physical and chemical properties

Color:	light yellow to brown
Appearance:	oily liquid
Odor:	aromatic, spicy
pH-value:	no data available
Flash point:	54°C
Water solubility:	Insoluble
Steam pressure:	Unavailable
Initial boiling point and boiling range:	Unavailable
Relative density at 20 °C:	0,868 - 0,883
Refractive index at 20°C:	1,484 - 1,489
Optical rotation at 20°C:	-45° to -29°

9.2 Other information:

Main components: Zingiber officinalis Oil (Ginger Oil), Citral, Geraniol, Limonene, Linalool

10. STABILITY AND REACTIVITY

10.1 Reactivity

This product is stable under normal usage conditions.

10.2. Chemical stability

This product is stable under normal usage conditions.

10.3 Possibility of hazardous reactions

None according to our knowledge.

10.4 Conditions to avoid

Do not expose to high temperature or ignition.

10.5 Incompatible materials

Avoid flammable materials, PVC.

10.6 Hazardous decompositions products

Nothing in proper storage conditions.

11. TOXICOLOGICAL INFORMATION

11.1 Information on toxicological effects

Toxicological specifications of the important substances:

Chemical description	Oral LD50	Dermal LD50	Inhalation LC50
1,8-Cineol	2.480 mg/kg (rat)	-	-
alpha-Pinene	3.700 mg/kg (rat)	-	-
alpha-Terpineol	3.200 mg/kg (rat)	-	-
beta-Bisabolene	-	-	-
beta-Phellandrene	-	-	-
Borneol	4.300 mg/kg (rat)	> 3.000 mg/kg (rabbit)	-
Camphene	5.000 mg/kg (rat)	> 2.500 mg/kg (rabbit)	-
Citral (Neral + Geranial)	4.960 mg/kg (rat)	2.250 mg/kg (rabbit)	-
Geranyl acetate	6.330 mg/kg (rat)	-	-
Limonene	4.400 mg/kg (rat)	> 2.000 mg/kg (rabbit)	-
Methyl-6-hepten-5-one 2	3.500 mg/kg (rat)	> 5.000 mg/kg (rabbit)	-
Myrcene	> 5.000 mg/kg (rat)	> 5.000 mg/kg (rabbit)	-
Paracymene	4.750 mg/kg (rat)	-	-

Skin corrosion/irritation:

No significant effects or critical hazards.

Serious eye damage/irritation:

No significant effects or critical hazards.

Respiratory or skin sensitization:

H317 May cause an allergic skin reaction.

Aspiration hazard:

H304 May be fatal if swallowed and enters airways.

Germ cell mutagenicity:

No significant effects or critical hazards.

Carcinogenicity:

No significant effects or critical hazards.

Reproductive toxicity:

No significant effects or critical hazards.

STOT-single exposure

Unavailable data.

STOT-repeated exposure

Unavailable data.

Information on likely routes of exposure

Unavailable data.

Symptoms related to the physical, chemical and toxicological characteristics

Unavailable data.

Delayed and immediate effects as well as chronic effects from short and long-term exposure

Unavailable data.

12. ECOLOGICAL INFORMATION

12.1 Toxicity

Use product only referred of good laboratory practice (GLP) to insure that it is not released into the environment.

According to regulation 1272/2008:

H412 Harmful to aquatic life with long lasting effects.

Daphnies toxicity (EC50):

No further relevant information available.

12.2 Persistence and degradability

No further relevant information available.

12.3 Bioaccumulative potential

Bioconcentration factor (BCF):

No further relevant information available.

Partition coefficient n-octanol / water (log KOW)

No further relevant information available.

12.4 Mobility in soil

No further relevant information available.

12.5 Results of PBT and vPvB assessment

No further relevant information available.

12.6 Other adverse effects

No further relevant information available.

13. DISPOSAL CONSIDERATION

13.1 Waste treatment methods

Waste should be recycled or disposed of according to the legislation in force, preferably by an approved recycling or waste treatment company.

14. TRANSPORT INFORMATION

14.1 UN-number

n.r.

14.2 UN proper shipping name

Land transport: ADR/RID; Dispatch Name: EXTRAKTE, AROMATISCH, FLÜSS IG

Transport by sea: IMDG/IMO; Technical Name: EXTRACTS, AROMATIC, LIQUID

Transport by air: ICAO/IATA; Technical Name: EXTRACTS, AROMATIC, LIQUID

14.3 Transport hazard class

ADR/RID: Class 3

IMDG/IMO: Class 3

ICAO/IATA: Class 3

14.4 Packing group

ADR/RID: Packing group III, Kemler code: 30

IMDG/IMO: Packing group III

ICAO/IATA: Packing group III

14.5 Environmental hazards

IMDG - Sea pollutant: No

14.6 Special precautions for user

Not applicable.

14.7 Transport in bulk according to Annex II of MARPOL 73/78 and IBC Code

Not applicable.

15. REGULATORY INFORMATION

15.1 Safety, health and environmental regulations (legislation) specific for the substance or mixture

Council Directive 67/548/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous substances and its subsequent amendments.

Directive 1999/45/EC of the European Parliament concerning the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous preparations and its subsequent amendments.

Council Directive 98/24/EC on the protection of the health and safety of workers from the risks related to chemical agents at work preparations.

Directive 2003/15/EC

Directive 2006/8/EC

Directive 91/322/EEC

Directive 2000/39/EC

Regulation (EC) No 1907/2006 (REACH) and its subsequent amendments

Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP) Regulation (EC) No 790/2009

Directive 2003/105/EC - Protection of workers - Control of major-accident hazards involving dangerous substances and its subsequent amendments

German Regulation on Substances Hazardous to Water 2005 (VwVwS),

15.2 Chemical safety assessment

Not relevant.

16. OTHER INFORMATION

Latest changes

This data sheet replaces all previous editions. The content of the MSDS is regulated by the Regulation (EC) n°1907/2006 (REACH).

Common shortened form:

ADR:	European Agreement concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road
CAS:	Chemical Abstracts Service (division of the American Chemical Society)
CLP:	Classification, Labeling, Packaging
EINECS:	European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances
FEMA:	Federal Emergency Management Agency
GHS:	Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals
IATA:	Dangerous Goods Regulation by the "International Air Transport Association" (IATA)
ICAO:	Technical Instructions by the "International Civil Aviation Organization" (ICAO)
IMDG:	International Maritime Code for Dangerous Goods
IMO:	International Maritime Organization
INCI:	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
LC50:	Lethal Concentration for 50 percent of the test population
LD50:	Lethal Dose for 50 percent of the test population
REACH:	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
PBT:	Persistent Bioaccumulating Toxicants
vPvB:	Very Persistent and Very Bioaccumulative Substance
RID:	Regulation Concerning the International Transport of Dangerous Goods by Rail
STOT:	Specific Target Organ Toxicity
TSCA:	Toxic Substances Control Act

Hazard statements according to regulation (EC) 1272/2008 (CLP):

Code	Description
H304	May be fatal if swallowed and enters airways.
H317	May cause an allergic skin reaction.
H412	Harmful to aquatic life with long lasting effects.

Precaution statements according to regulation (EC) 1272/2008 (CLP):

Code	Description
Prevention:	
P261	Avoid breathing dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray.
P272	Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.


P273	Avoid release to the environment.
P280	Wear protective gloves / eye protection.
<u>Response:</u>	
P301+P310	IF SWALLOWED: Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P321	Specific treatment (see on this label).
P331	Do NOT induce vomiting.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
P363	Wash contaminated clothing before reuse.
<u>Storage:</u>	
P405	Store locked up.
<u>Disposal:</u>	
P501	Dispose of contents/container to special waste.

Training advice:

Possible hazards:	see section 2
First aid measures:	see section 4
Firefighting measures:	see section 5
Personal protection equipment:	see section 8
Waste treatment methods:	see section 13

The information this contains is based on the state of our knowledge about the product concerned at the time of update. They are given in good faith. The information given is designed only as guidance for safe handling, use, processing, storage, transportation, disposal and release and is not to be considered a warranty or quality specification. The information relates only to the specific material designated and may not be valid for such material used in combination with any other Materials or in any process, unless specified in the text.

Even though precaution has been taken to ensure accuracy of data, no guarantee can be given. Because data's are taken partly from other sources.

Created on: 24.03.2016 Page: 1 of 8	MATERIAL SAFETY DATA SHEET according to regulation (EC) 1907/2009 according to regulation (EU) 453/2010 3140 Cinnamon (Cassia), China	AYUS GMBH 
--	--	--

1. IDENTIFICATION OF THE SUBSTANCE AND OF THE COMPANY

1.1 Product identifier

Trade Name:	Cinnamon (Cassia), China
Botanical Name:	Cinnamomum cassia
INCI:	Cinnamomum cassia Oil (Cinnamon Oil (Cassia Oil))
CAS TSCA-No:	8007-80-5
CAS EINECS-No:	84961-46-6
EINECS-No.:	284-635-0
FEMA-No.:	2258

1.2 Relevant identified uses of the substance and uses advised against

Substance use: Perfumery and/or aromatic uses

1.3 Details of the supplier of the safety data sheet

Supplier name:	AYUS GmbH
Address:	Am Dreschschofp 1
Phone:	+49 7227 600 99-0
Fax:	+49 7227 600 99-99
E-mail:	info@oshadhi.eu

1.4 Emergency telephone number

Poison emergency number: 089-19240


2. HAZARDS IDENTIFICATION

2.1 Classification of the substance according to regulation (EG) 1272/2008 (CLP)

Hazard class and Hazard category	Code	Hazard statement
Acute Toxicity, category 4 - dermal	H312	Harmful in contact with skin.
Skin corrosion/irritation, category 2	H315	Causes skin irritation.
Respiratory/skin sensitisation, skin sensitisation category 1	H317	May cause an allergic skin reaction.
Causes serious eye damage/irritation, category 2	H319	Causes serious eye irritation.

2.2 Label elements

Hazard pictogram and signal word

			
---	--	--	--

WARNING:

H-Statements:

H312	Harmful in contact with skin.
H315	Causes skin irritation.
H317	May cause an allergic skin reaction.
H319	Causes serious eye irritation.

P-Statements:**Prevention:**

P261	Avoid breathing dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray.
P264	Wash thoroughly after handling.
P272	Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.
P280	Wear protective gloves / eye protection.

Response:

P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P305+P351+P338	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P312	Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
P321	Specific treatment (see on this label).
P322	Specific measures (see on this label).
P332+P313	If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
P337+P313	If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
P362	Take off contaminated clothing and wash before reuse.
P363	Wash contaminated clothing before reuse.

Storage:**Disposal:**

P501	Dispose of contents/container to special waste.
------	---

2.3 Other Hazards

Allergens (according to regulation (EC) No 1223/2009 on cosmetic products)

Coumarin	max. 5,0 %
Cinnamal (Cinnamaldehyde)	75,0 - 85,0 %
Benzyl Benzoate	max. 0,1 %
Cinnamyl Alcohol	max. 5,0 %

3. COMPOSITION / INFORMATION ON INGREDIENTS**3.1 Substances**

Chemical Identification: Cinnamomum cassia oil (100% natural essential oil)

Hazardous constituent: according to EG-Regulation 1272/2008 (CLP)

Ingredient	Concentration	Registration-N.	CLP-Classification
Benzaldehyde	< 5,0 %	CAS-No: 100-52-7 EINECS-No: 202-860-4	Acute Tox. 4, H302
Cinnamal (Cinnamaldehyde)	75,0 - 85,0 %	CAS-No: 104-55-2 EINECS-No: 203-213-9	Acute Tox. 4, H312 Skin Irrit. 2, H315 Skin Sens. 1, H317 Eye Irrit. 2, H319
Cinnamyl alcohol	< 5,0 %	CAS-No: 104-54-1 EINECS-No: 203-212-3	Acute Tox. 4, H302 Skin Irrit. 2, H315 Skin Sens. 1, H317 Eye Irrit. 2, H319
Coumarin	< 5,0 %	CAS-No: 91-64-5 EINECS-No: 202-086-7	Acute Tox. 4, H302 Skin Sens. 1, H317 STOT RE 2, H373

4. FIRST AID MEASURES**4.1 Description of first aid measures**

Excessive inhalation:	Remove to fresh air environment – summon a physician immediately.
Skin contact:	Wash contaminated skin with copious amounts of water and soap. Remove contaminated clothes and wash them before reuse. Summon a physician, if an irritation appears.
Eye contact:	Wash contaminated skin with copious amounts of water for at least 10 minutes – open eyelids forcibly. Summon a physician immediately.
Ingestion:	Dilute with water. Do not induce vomiting. Contact physician.

4.2 Most important symptoms and effects, both acute and delayed

No further details.

4.3 Indication of any immediate medical attention and special treatment needed

Contact a poison specialist immediately if large quantities have been ingested or inhaled.

5. FIREFIGHTING MEASURES

5.1 Extinguishing media

Advised extinguisher: Use CO₂, dry powder, fire extinguisher or foam.

Unadvisable extinguisher: Direct jet of water.

5.2 Special hazards arising from the substance or mixture

Avoid breathing vapours and smokes produced by fire.

Burning will cause strong smoke and soot.

5.3 Advice for firefighters

Do not attempt to fight the fire with water, which tends to feed rather than smother the flames. Essential oils have the ability to float on water and this causes the fire to propagate more quickly. Small fires can be smothered by covering with earth, sand or a blanket.

6. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency procedures

Avoid skin, eye and clothes contact. There is a risk of sliding caused by the leaked product. Ventilate well spilling area. Keep away from sources of ignition.

6.2 Environmental precautions

Avoid dispose into drainage, sewer system or in any natural environment. Dispose binding material, cloths and sponges according to the national law.

6.3 Methods and material for containment and cleaning up

Use of absorbent material (e.g. sand, diatomaceous earth).

6.4 Reference to other sections

Please see section 8 and 13.

7. HANDLING AND STORAGE

7.1 Precautions for safe handling

Ventilate the storage and preparation warehouse/laboratory. Avoid eating, drinking and smoking in the places where products are stored and treated. Manipulate with caution to avoid any projection particularly in eyes and on mucous membranes. Do not expose vapors to the flame or quite other source of ignition. Do not inhale warm vapors.

7.2 Conditions for safe storage, including any incompatibilities

It is recommended to keep the product in a water-tight and air-tight container. Keep away from heat and sunlight. Store in a cool and good ventilated area.

7.3 Specific end uses

No specific.

8. EXPOSURE CONTROLS / PERSONAL PROTECTION

8.1. Control parameters

Please pay attention to the usual precautionary measures with the contact of essential oils. Use good hygiene practice:

Please wash before contact, before eating and at the end of the working day.

8.2 Exposure controls

Personal protective equipment:

Breathing protection:	Use in well aired areas.
Eye protection:	Safety glasses.
Hand protection:	Protecting gloves.
Skin protection:	Avoid skin contact. Protective suit should be worn.

9. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

9.1 Information on basic physical and chemical properties

Color:	light yellow to brownish
Appearance:	oily liquid
Odor:	spicy
pH-value:	no data available
Flash point:	130°C
Water solubility:	Insoluble
Steam pressure:	Unavailable
Initial boiling point and boiling range:	Unavailable
Relative density at 20 °C:	1,052 - 1,07
Refractive index at 20°C:	1,6 - 1,614
Optical rotation at 20°C:	-3° to +6°

9.2 Other information:

Main components: Cinnamomum cassia Oil (Cinnamon Oil (Cassia Oil), Benzyl Benzoate, Cinnamal (Cinnamaldehyde), Cinnamyl Alcohol, Coumarin

10. STABILITY AND REACTIVITY

10.1 Reactivity

This product is stable under normal usage conditions.

10.2. Chemical stability

This product is stable under normal usage conditions.

10.3 Possibility of hazardous reactions

None according to our knowledge.

10.4 Conditions to avoid

Do not expose to high temperature or ignition.

10.5 Incompatible materials

Avoid flammable materials, PVC.

10.6 Hazardous decompositions products

Nothing in proper storage conditions.

11. TOXICOLOGICAL INFORMATION

11.1 Information on toxicological effects

Toxicological specifications of the important substances:

Chemical description	Oral LD50	Dermal LD50	Inhalation LC50
Benzaldehyde	1.300 mg/kg (rat)	-	-
Cinnamal (Cinnamaldehyde)	2.220 mg/kg (rat)	-	-
Cinnamyl alcohol	2.000 mg/kg (rat)	> 5.000 mg/kg (rabbit)	-
Coumarin	293 mg/kg (rat)	-	-

Skin corrosion/irritation:

H315 Causes skin irritation.

Serious eye damage/irritation:

H319 Causes serious eye irritation.

Respiratory or skin sensitization:

H317 May cause an allergic skin reaction.

Aspiration hazard:

No significant effects or critical hazards.

Germ cell mutagenicity:

No significant effects or critical hazards.

Carcinogenicity:

No significant effects or critical hazards.

Reproductive toxicity:

No significant effects or critical hazards.

STOT-single exposure

Unavailable data.

STOT-repeated exposure

Unavailable data.

Information on likely routes of exposure

Unavailable data.

Symptoms related to the physical, chemical and toxicological characteristics

Unavailable data.

Delayed and immediate effects as well as chronic effects from short and long-term exposure Unavailable data.**12. ECOLOGICAL INFORMATION****12.1 Toxicity**

Use product only referred of good laboratory practice (GLP) to insure that it is not released into the environment. According to regulation 1272/2008:

No significant effects or critical hazards.

Daphnies toxicity (EC50):

No further relevant information available.

12.2 Persistence and degradability

No further relevant information available.

12.3 Bioaccumulative potential**Bioconcentration factor (BCF):**

No further relevant information available.

Partition coefficient n-octanol / water (log K_{OW})

No further relevant information available.

12.4 Mobility in soil

No further relevant information available.

12.5 Results of PBT and vPvB assessment

No further relevant information available.

12.6 Other adverse effects

No further relevant information available.

13. DISPOSAL CONSIDERATION

13.1 Waste treatment methods

Waste should be recycled or disposed of according to the legislation in force, preferably by an approved recycling or waste treatment company.

14. TRANSPORT INFORMATION

14.1 UN-number

14.2 UN proper shipping name

Land transport: ADR/RID; Dispatch Name: EXTRAKTE, AROMATISCH, FLÜSSIG
Transport by sea: IMDG/IMO; Technical Name: EXTRACTS, AROMATIC, LIQUID
Transport by air: ICAO/IATA; Technical Name: EXTRACTS, AROMATIC, LIQUID

14.3 Transport hazard class

ADR/RID: Class 3
IMDG/IMO: Class 3
ICAO/IATA: Class 3

14.4 Packing group

ADR/RID: Packing group III, Kemler code: 30
IMDG/IMO: Packing group III
ICAO/IATA: Packing group III

14.5 Environmental hazards

IMDG - Sea pollutant: No

14.6 Special precautions for user

Not applicable.

14.7 Transport in bulk according to Annex II of MARPOL 73/78 and IBC Code

Not applicable.

15. REGULATORY INFORMATION

15.1 Safety, health and environmental regulations (legislation) specific for the substance or mixture

Council Directive 67/548/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous substances and its subsequent amendments.

Directive 1999/45/EC of the European Parliament concerning the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labelling of dangerous preparations and its subsequent amendments.

Council Directive 98/24/EC on the protection of the health and safety of workers from the risks related to chemical agents at work preparations.

Directive 2003/15/EC

Directive 2006/8/EC

Directive 91/322/EEC

Directive 2000/39/EC

Regulation (EC) No 1907/2006 (REACH) and its subsequent amendments

Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP) Regulation (EC) No 790/2009

Directive 2003/105/EC - Protection of workers - Control of major-accident hazards involving dangerous substances and its subsequent amendments

German Regulation on Substances Hazardous to Water 2005 (VwVwS),

15.2 Chemical safety assessment

Not relevant.

16. OTHER INFORMATION

Latest changes

This data sheet replaces all previous editions. The content of the MSDS is regulated by the Regulation (EC) n°1907/2006 (REACH).

Common shortened form:

ADR:	European Agreement concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road
CAS:	Chemical Abstracts Service (division of the American Chemical Society)
CLP:	Classification, Labeling, Packaging
EINECS:	European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances
FEMA:	Federal Emergency Management Agency
GHS:	Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals
IATA:	Dangerous Goods Regulation by the "International Air Transport Association" (IATA)
ICAO:	Technical Instructions by the "International Civil Aviation Organization" (ICAO)
IMDG:	International Maritime Code for Dangerous Goods
IMO:	International Maritime Organization
INCI:	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
LC50:	Lethal Concentration for 50 percent of the test population
LD50:	Lethal Dose for 50 percent of the test population
REACH:	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
PBT:	Persistent Bioaccumulating Toxicants
vPvB:	Very Persistent and Very Bioaccumulative Substance
RID:	Regulation Concerning the International Transport of Dangerous Goods by Rail
STOT:	Specific Target Organ Toxicity
TSCA:	Toxic Substances Control Act

Hazard statements according to regulation (EC) 1272/2008 (CLP):

Code	Description
H312	Harmful in contact with skin.
H315	Causes skin irritation.
H317	May cause an allergic skin reaction.
H319	Causes serious eye irritation.

Precaution statements according to regulation (EC) 1272/2008 (CLP):

Code	Description
Prevention:	
P261	Avoid breathing dust/ fume/ gas/ mist/ vapours/ spray.
P264	Wash thoroughly after handling.
P272	Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace.
P280	Wear protective gloves / eye protection.

Response:

P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P305+P351+P338	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P312	Call a POISON CENTER or doctor/physician if you feel unwell.
P321	Specific treatment (see on this label).
P322	Specific measures (see on this label).
P332+P313	If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
P337+P313	If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
P362	Take off contaminated clothing and wash before reuse.
P363	Wash contaminated clothing before reuse.

Storage:

Disposal:

P501	Dispose of contents/container to special waste.
------	---

Training advice:

Possible hazards:	see section 2
First aid measures:	see section 4
Firefighting measures:	see section 5
Personal protection equipment:	see section 8
Waste treatment methods:	see section 13

The information this contains is based on the state of our knowledge about the product concerned at the time of update. They are given in good faith. The information given is designed only as guidance for safe handling, use, processing, storage, transportation, disposal and release and is not to be considered a warranty or quality specification. The information relates only to the specific material designated and may not be valid for such material used in combination with any other Materials or in any process, unless specified in the text.

Even though precaution has been taken to ensure accuracy of data, no guarantee can be given. Because data's are taken partly from other sources.