

AÇÃO DE ÓLEOS ESSENCIAIS CÍTRICOS SOBRE ALGUMAS BACTÉRIAS

Joyce Rota Bazan
Mairto Roberis Geromel
Maria Luiza Silva Fazio

1-Instituto Municipal de Ensino Superior - IMES Catanduva-Departamento de Nutrição | 17 - 35312200
Avenida Daniel Dalto s/n - (Rodovia Washington Luis - SP 310 - Km 382) | Caixa Postal: 86 | 15.800-970 |
Catanduva-SP

RESUMO

Os óleos essenciais cítricos são uma combinação de substâncias aromáticas, produzidas a partir de diversas partes das plantas como as folhas, flores, frutos, caules, raízes, rizomas e sementes. A rica composição dos óleos essenciais pode variar de acordo com a espécie e parte da planta da qual são extraídos. A presente pesquisa apresentou como objetivo avaliar a ação antimicrobiana de óleos essenciais cítricos sobre algumas bactérias. Diante disso, foram utilizados óleos essenciais de laranja doce, laranja sanguínea, limão siciliano e limão Tahiti, impregnados em discos próprios para antibiograma de 6 mm de diâmetro; distribuídos em placas de Petri com meios de cultura apropriados, semeados previamente com os seguintes microrganismos: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium e *Staphylococcus aureus*, posteriormente incubadas à 35° C/24 – 48 horas. Considerou-se de ação antimicrobiana eficaz aqueles que apresentaram halos iguais ou superiores a 10 mm. O óleo essencial de limão Tahiti inibiu de maneira eficiente todas as bactérias testadas. Os óleos essenciais de limão siciliano e laranja doce não inibiram nenhum dos microrganismos. O melhor resultado foi verificado para o óleo essencial de limão Tahiti sobre *S.Enteritidis* (halo de 45 mm).

Palavras-chaves: atividade antimicrobiana, óleo essencial, limão Tahiti, *Salmonella* Typhimurium.

ABSTRACT

Citrus essential oils are a combination of aromatic substances which are produced from different parts of plants, such as leaves, flowers, fruits, stems, roots, rhizomes, and seeds. The oil composition richness may vary according to the species and the part of the plant they are extracted from. The aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of citrus essential oils on some bacteria. In order to do so, we used essential oils from sweet orange, blood orange, lemon, and lime, which were impregnated in 6mm filter paper discs and distributed on Petri dishes with appropriate culture media. The dishes were previously cultivated with the following: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium and *Staphylococcus aureus*. Afterwards, they were incubated at 35° C for 24 – 48 hours. In order to be considered efficient, the antimicrobial activity had to present halos of 10 mm or more. The essential oil of lime efficiently inhibited all tested bacteria. In turn, the oils of lemon and sweet orange did not inhibit any of the microorganisms. The best result found was for the essential oil of lime on *S.Enteritidis* (45 mm halo).

Key words: antimicrobial activity, essential oil, lime, *Salmonella* Typhimurium.

INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais são uma combinação de substâncias aromáticas, produzidos naturalmente como metabólitos secundários de diferentes partes das plantas como as folhas, flores, frutos, caules, raízes, rizomas e sementes, A composição dos óleos essenciais pode variar de acordo com a espécie e parte da planta de que são extraídos, da extração e solvente utilizado, das características da planta, do estágio de desenvolvimento da planta, entre outros (LUPE, 2007).

Diante disso, as substâncias puras ou não, são produzidas a partir de diversas partes da planta, como flores e sementes, contendo aromas diferentes de acordo com a planta de origem (AMEH; OBODOZIE-OFOEGBU, 2016). Sendo assim, os óleos essenciais dos cítricos são formados por substâncias voláteis sendo responsáveis por suas essências e aromas de fruta fresca (GOMES, 2011).

Hoje sabemos que os microrganismos podem desempenhar papéis muito importantes nos alimentos, sendo possível classificá-los em três grupos distintos, dependendo do tipo de interação existente entre microrganismo e alimento. Nos alimentos são causadores de alterações químicas prejudiciais resultando no que chamamos deterioração microbiana, a qual resulta em alterações de cor, odor, sabor, textura e aspecto de alimento. Essas alterações são consequência da atividade metabólica natural dos microrganismos, que estão apenas tentando perpetuar a espécie, utilizando os alimentos como fonte de energia. A deterioração provocada é somente uma consequência desse processo. Os microrganismos presentes nos alimentos podem representar um risco à saúde. Estes microrganismos são genericamente denominados “patogênicos” podendo afetar tanto homem como animais (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

As Doenças Transmitidas por Alimentos – DTA - vêm aumentando de forma significativa em todo o mundo sendo responsáveis pela ocorrência de surtos de pequenas, médias e grandes proporções. A enfermidade é caracterizada pelo desenvolvimento de sinais e sintomas entéricos resultantes do consumo de alimentos contendo patógenos e ou seus metabólitos tóxicos. Vários são os fatores que contribuem para a ocorrência das

DTAs, dentre os quais se destacam: a globalização, o crescente aumento populacional, a surgimento de grupos vulneráveis, a mudança dos hábitos alimentares, o processo de urbanização desordenado e a necessidade de produção de alimentos em grande escala (DIAS; BERNARDES; ZUCCOLI, 2011).

A estabilidade de alguns alimentos frente ao ataque de microorganismos é devida à presença de algumas substâncias naturalmente presentes nesses alimentos, tendo a capacidade de retardar ou mesmo impedir a multiplicação microbiana (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Os antimicrobianos naturais, compostos com capacidade para inibir o crescimento de microrganismos, incluindo bactérias, vírus e fungos, constituem cada vez mais uma nova forma de garantir uma alimentação segura, mantendo inalterada a qualidade dos alimentos. Em voga há muitos anos, o uso destes compostos começa a crescer no mercado europeu, especialmente em combinação com outras técnicas modernas de controle, como a análise de riscos e o controle de pontos críticos. Quanto mais ácido o alimento, mais ativo é contra os microrganismos (FOOD INGREDIENTS BRASIL, 2010).

Está cada vez mais nítida a necessidade de aumentar a vida de prateleira dos alimentos. A preocupação em substituir aditivos químicos pelos naturais é uma alternativa para garantir a longevidade das pessoas. Sendo assim revela-se a importância de estudos acadêmicos de novas plantas que apresentem atividade antimicrobiana e que permitam a durabilidade de produtos oferecidos ao consumidor. Com isso a saúde e o bem estar destes teria uma melhora significativa, assim como os produtos que apresentariam melhor qualidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo avaliou a atividade antimicrobiana de óleos essenciais de laranja doce (*Citrus sinensis*), laranja sanguínea (*Citrus sinensis* Blood Orange), limão siciliano (*Citrus lemon*), limão Tahiti (*Citrus latifolia*); sobre algumas bactérias; no caso, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*

(ATCC 14028), *Salmonella* Enteritidis e *Staphylococcus aureus* (ATCC 22923).

As cepas microbianas empregadas no estudo foram provenientes da coleção do Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), de São José do Rio Preto - SP. São bactérias oriundas da American Type Culture Collection (ATCC).

No laboratório cada amostra recebeu uma identificação: laranja doce (LD), laranja sanguínea (LS), limão siciliano (LSi), limão Tahiti (LT). Em seguida foram dispostos 10 ml de cada óleo em frascos estéreis de 50 mL.

Os discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro, próprios para antibiograma foram adicionados à solução, sendo a mesma mantida no agitador por 30 minutos. Os microrganismos previamente semeados em Caldo Nutriente e incubados a 35°C por 24 horas, foram semeados na superfície de placas de Petri contendo Ágar Nutriente. As análises foram realizadas em duplicata. Na sequência discos de antibiograma saturados com a solução foram colocados no centro de cada placa; sendo as mesmas incubadas a 35°C por 24 e 48 horas. Após este período foi possível observar e medir o halo de inibição. Halos iguais ou superiores a 10 mm foram considerados de atividade antimicrobiana eficaz (HOFFMANN et al., 1999).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A **Tabela 1** ilustra os resultados da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de laranja doce, laranja sanguínea, limão siciliano e limão Tahiti sobre as diferentes bactérias.

Tabela 1. Determinação da ação antimicrobiana dos óleos essenciais de laranja doce, laranja sanguínea, limão siciliano e limão Tahiti, impregnados em discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro, incubação a 35°C/ 24 e 48 horas; expressa como halo de inibição em mm.

	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i> Enteritidis	<i>Salmonella</i> Typhimurium	<i>Staphylococcus aureus</i>
LS	-	-	-	15	20	-
LSi	-	-	-	-	-	-
LT	30	15	20	45	30	30
LD	-	-	-	-	-	-

O óleo essencial de laranja sanguínea apresentou ação eficiente sobre as bactérias Gram – do gênero *Salmonella*. Aquele de limão Tahiti exerceu atividade eficiente sobre todas as bactérias, sendo a melhor constatada sobre a *S. Enteritidis*.

No que se refere a *Bacillus cereus*, inibição eficaz foi verificada apenas para o óleo essencial de limão Tahiti (halo de 30 mm). Em trabalhos similares desenvolvidos por outros pesquisadores verificou-se ação eficiente de outros óleos essenciais sobre esse microrganismo; óleo essencial de canela (TRAJANO et al., 2009), e óleo essencial de limão siciliano (FAZIO et al., 2018).

Com relação a *B. subtilis*, o mesmo foi inibido eficientemente pelo óleo essencial de limão Tahiti (halo de 15 mm). Pesquisas semelhantes realizadas por outros autores mostraram a ação de outros óleos essenciais sobre essa bactéria; óleo essencial de *Melampodium divaricatum* (flor encontrada na América Latina) (PELLISSARI; PIETRO; MOREIRA, 2010) e óleo essencial de cravo da Índia (SILVESTRI et al., 2015).

A bactéria *E. coli* foi inibida de maneira eficaz pelo óleo essencial de limão Tahiti (halo de 20 mm) (**Figura 1**). Inibição eficiente também foi verificada em outros experimentos realizados com óleo essencial de canela (ANDRADE et al., 2012), óleos essenciais das plantas nativas *Baccharis uncinella* (vassoura), *Baccharis dracunculifolia* (alecrim), extrato etanólico de *Plectranthus barbatus* (MOTHANA et al., 2019) e óleo essencial de canela em casca (SALVIANO, 2016).

Figura 1. Ação do óleo essencial de limão Tahiti sobre a bactéria *E.coli*(48 horas).

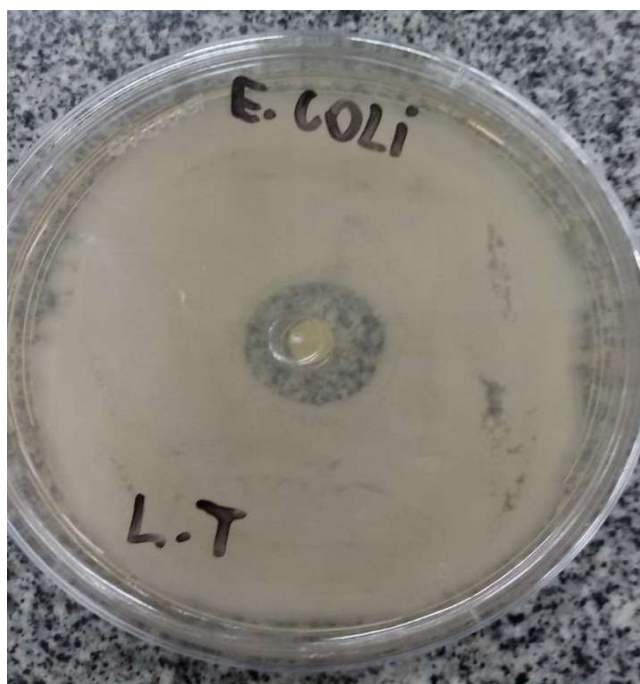
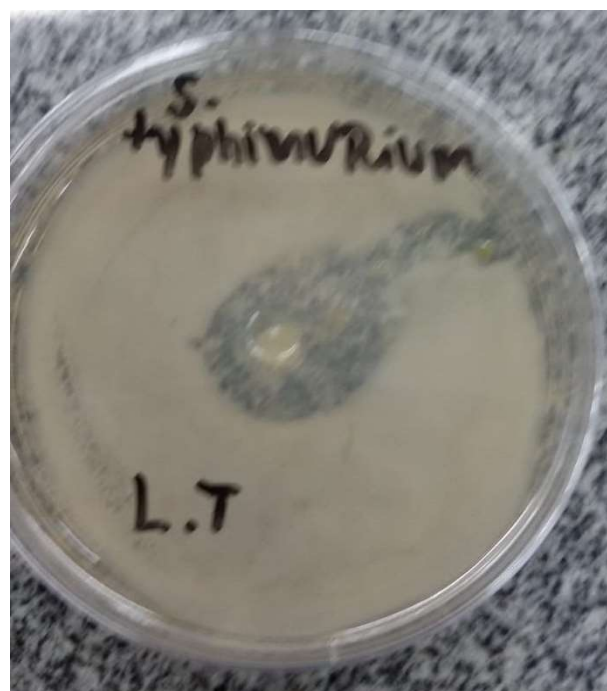


Figura 2. Ação do óleo essencial do limão Tahiti sobre a bactéria *S. Typhimurium* (48 horas).



O microrganismo *S. Enteritidis* foi inibido de forma eficiente pelos óleos essenciais de laranja sanguínea (halo de 15 mm) e limão Tahiti (halo de 45 mm). Ação eficaz foi observada por outros pesquisadores ao testarem óleo essencial de orégano (SILVA et al., 2010) e óleo essencial de alecrim (HENTZ; SANTIN, 2007).

S.Typhimurium foi inibida de maneira eficiente pelos óleos essenciais de laranja sanguínea (halo de 20 mm) e limão Tahiti (halo de 30 mm) (**Figura 2**). Estudos realizados anteriormente evidenciaram ação eficiente de outros compostos; óleos essenciais de citronela, palmarosa e cravo (SCHERER et al., 2009), carvacrol (TREVISAN et al., 2015) e extrato aquoso de sálvia (FAZIO; MARTINS; GEROMEL, 2015).

Sobre a bactéria *S. aureus* a ação mais eficiente foi evidenciada pelo óleo essencial de limão Tahiti (halo de 30 mm). Resultados semelhantes foram observados em outras pesquisas nas quais foram testados; óleo essencial das folhas de *Vitex gardneriana* (árvore encontrada nas caatingas do nordeste) (VALE et al., 2019), óleo essencial de folhas de pêssego (TONELLI, 2017), óleo essencial de orégano (BOTREL et al., 2015) e óleos essenciais de canela da china e tomilho branco (FREIRE et al., 2014).

CONCLUSÃO

O melhor resultado foi verificado para o óleo essencial de limão Tahiti sobre *S. Enteritidis*. O óleo essencial de limão Tahiti inibiu de maneira eficiente todas as bactérias testadas. Os óleos essenciais de limão siciliano e laranja doce não inibiram nenhum dos microrganismos.

REFERÊNCIAS

AMEH. S.J.; OBODOZIE-OFOEGBU, O. Essential Oils as Flavors in Carbonated Cola and Citrus Soft Drinks In: PREEDY, V.R. **Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety.**

Londres: Elsevier Science Inc, 2016. cap 11, p.111-121

BOTREL, D. A. et al. Avaliação de filme incorporado com óleo essencial de orégano para conservação de pizza pronta. **Ceres**, v. 57, n. 3, 2015.

DIAS, R. S.; BERNARDES, A. F. L.; ZUCCOLI, P. C. A importância do processo de investigação na elucidação de surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) <http://dx.doi.org/10.15601/2238-1945/pcnb.v1n2p17-23>. **NBC-Periódico Científico do Núcleo de Biociências**, v. 1, n. 2, p. 17-23, 2011.

FAZIO, M. L. S. et al. Ação antimicrobiana de óleos essenciais de laranja 5f, laranja 10f, limão siciliano e mandarina verde. **Revista Interciência**, v. 1, n. 1, p. 10-10, 2018.

FAZIO, M.L.S; MARTINS, T.V.; GEROMEL, M.R Antimicrobial activity of different spices. IN: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 28, 2015. Florianópolis. Anais...Florianópolis: SBM: 2015. Disponível em: <http://www.sbmicrobiologic.org.br>. Acesso em: 17 maio 2019.

FiB FOOD INGREDIENTES BRASIL. AGENTES ANTIMICROBIANOS QUÍMICOS E NATURAIS Nº 15. 2010. Disponível em: <http://www.revista-fi.com/materias/155.pdf>. Acesso em: 12 mai. 2019.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182 p.

FREIRE, I. C.M. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, p. 372-377, 2014.

GOMES, M.S. **Caracterização química e atividade antifúngica dos óleos essenciais de cinco espécies do gênero Citrus**, 2011.98 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.

HENTZ, S. M.; SANTIN, N. C. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) contra *Salmonella* sp. **Evidência-Ciência e Biotecnologia**, v. 7, n. 2, p. 93-100, 2007.

HOFFMANN, F. L. et al. Determinação da atividade antimicrobiana “in vitro” de quatro óleos essenciais de condimentos e especiarias. **Boletim Central de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 17, n. 1, p.11-20, 1999.

LUPE, F. A. **Estudo da composição química de óleos essenciais de plantas aromáticas da Amazônia**. 2007.

MOTHANA, R. A. et al. Comparative evaluation of cytotoxic, antimicrobial and antioxidant activities of the crude extracts of three *Plectranthus* species grown in Saudi Arabia. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 27, n. 2, p. 162-170, 2019.

PELISSARI, G. P.; PIETRO, R. C. L. R.; MOREIRA, R. R. D. Atividade antibacteriana do óleo essencial de *Melampodium divaricatum* (Rich.) DC., Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, p. 70-74, 2010.

SALVIANO, L. F. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais de café verde e torrado (Coffea arábica), cacau (Theobromacacao), casca e folha de canela do Ceilão (Cinnamomum zeylanicum)**. Catanduva, 2016. 33 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Instituto Municipal de Ensino Superior de Catanduva, 2016.

SCHERER, R. et al. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 2009.

SILVA, J. P. L. et al. Óleo essencial de orégano: interferência da composição química na atividade frente a *Salmonella* Enteritidis.

Embrapa Solos-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2010.

SILVESTRI, J. D. F. et al. Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial do cravo-da-índia (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). *Ceres*, v. 57, n. 5, 2015

TONELLI, M. **Ação antimicrobiana de óleos essenciais de sucupira branca (*Pterodon emarginatus*), folhas de pêssego (*Prunus persica*), bagas de junípero (*Juniperus communis*), rosa de damasco (*Rosa damascena*) e petitgrain mandarina (*Citrus deliciosa*)**. Catanduva, 2017. 37 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Instituto Municipal de Ensino Superior de Catanduva, 2017.

TRAJANO, V. N. et al. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 542-545, 2009.

VALE, J.P.C. et al. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antibiofilm activities of *Vitex gardneriana* schauer leaves's essential oil. **Microbial Pathogenesis**, volume 135, 2019.