

# ACÇÃO ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE LARANJA 5F, LARANJA 10F, LIMÃO SICILIANO E MANDARINA VERDE

---

Maria Luiza Silva Fazio<sup>1</sup>, Mateus Tonelli<sup>2</sup>, Vinicius Silva De Almeida<sup>3</sup>, Mairto Roberis Geromel<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Engenheira de Alimentos, Docente do curso de Nutrição do Instituto Municipal de Ensino Superior - IMES Catanduva e Orientador deste Projeto de Pesquisa; e-mail: mlsfazio@yahoo.com | Avenida Daniel Dalto s/nº (Rodovia Washington Luis - SP 310 - Km 382) | Caixa Postal 86 | 15.800-970 | Catanduva-SP;

<sup>2</sup>Mateus Tonelli - Bacharel em Nutrição - IMES/ Catanduva

<sup>3</sup>Vinicius Silva De Almeida - Bacharel em Nutrição - IMES/ Catanduva

<sup>4</sup>Mairto Roberis Geromel - Responsável técnico laboratorial - IMES/Catanduva

---

## RESUMO

A presença de microrganismos nos alimentos pode, além de reduzir a vida de prateleira, causar toxinfecções nos consumidores. O interesse em antimicrobianos naturais tem se expandido nos últimos anos em resposta a demanda dos consumidores por aditivos naturais. Esse trabalho apresentou como objetivo verificar a acção antibacteriana dos óleos essenciais: laranja 5F (L5F), laranja 10F (L10F), limão siciliano (LS) e mandarina verde (MV). Os testes foram realizados com os óleos essenciais individualmente e combinados. Os óleos essenciais foram impregnados em discos de papel filtro de 6 mm de diâmetro, próprios para antibiograma, colocados em placas de Petri com meio de cultura apropriado, semeado previamente com os seguintes microrganismos: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis e *Staphylococcus aureus*, posteriormente incubadas a 35°C/ 24-48 horas. Considerou-se de acção antimicrobiana eficaz aqueles que apresentaram halos iguais ou superiores a 10 mm. No que se refere a *S. aureus*, os valores mais eficientes foram observados para os óleos essenciais de L10F + MV (halo de 38 mm); LS (halo de 37 mm); L5F + L10F (halo de 32 mm). *B. cereus* foi inibida de forma eficiente por todos os óleos essenciais testados. Os óleos essenciais L5F, LS, L5F + LS, L5F + MV, L10F + MV e MV + LS apresentaram o maior espectro de acção, inibindo todas as bactérias testadas.

Palavras-chaves: óleo essencial, Laranja 5F, Limão siciliano, atividade antimicrobiana, *B. cereus*,

## ABSTRACT

The presence of microorganisms in foods can, in addition to reducing shelf life, cause toxinfecções in consumers. Interest in natural antimicrobials has expanded in recent years in response to consumer demand for natural additives. This work aimed to verify the antibacterial action of essential oils: orange 5F (L5F), orange 10F (L10F), sicilian lemon (LS) and green mandarin (MV). The tests were performed with the essential oils individually and in combination. The essential oils were impregnated into antibiogram-designed 6 mm diameter filter paper disks placed in Petri dishes with appropriate culture medium, previously seeded with the following microorganisms: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis and *Staphylococcus aureus*, later incubated at 35 ° C / 24-48 hours. Halos equal to or greater than 10 mm were considered as effective antimicrobial action. As regards *S. aureus*, the most efficient values were observed for the essential oils of L10F + MV (halo of 38 mm); LS (37 mm halo); L5F + L10F (32 mm halo). *B. cereus* was efficiently inhibited by all tested essential oils. The essential oils L5F, LS, L5F + LS, L5F + MV, L10F + MV and MV + LS presented the highest action spectrum, inhibiting all the bacteria tested.

Key words: essential oil, Orange 5F, Sicilian lemon, antimicrobial activity, *B. cereus*,

---

## INTRODUÇÃO

A presença de microrganismos nos alimentos pode, além de reduzir a vida de prateleira, causar toxinfecções nos consumidores (MELO et al., 2005). O interesse em antimicrobianos naturais tem se expandido nos últimos anos em resposta a demanda dos consumidores por aditivos naturais. Durante as duas últimas décadas, conservantes naturais têm sido investigados para aplicações práticas (TIWARI et al., 2009). Dentre diversos outros produtos naturais, extratos vegetais e óleos essenciais vêm sendo largamente estudados para uso como conservantes naturais de alimentos e, têm demonstrado promissoras propriedades antioxidantes, antimicrobianas e antiparasitárias (OKPEKON et al., 2004; SOKMEN et al., 2004; SACCHETTI et al., 2005; FERREIRA et al., 2006; BOULANOUAR et al., 2013).

Em particular, os óleos essenciais podem afetar tanto o invólucro externo quanto o citoplasma das células bacterianas, sendo a membrana celular o primeiro alvo. Isto ocorre devido à hidrofobicidade destes e de seus componentes, que permitem que eles se difundam através da bicamada fosfolipídica (NAZZARO et al., 2013). O mecanismo de ação dos óleos essenciais sobre as bactérias está relacionado à perturbação da membrana citoplasmática, danos nas proteínas da membrana, coagulação do citoplasma, alteração no fluxo de elétrons, interrupção da força próton motriz, alteração do transporte ativo e redução do pool de ATP intracelular (BURT, 2004; NAZZARO et al., 2013). Os extratos vegetais são uma alternativa terapêutica para o tratamento de microrganismos multirresistentes, apresentando muitas vantagens: menor efeito colateral, melhor tolerância do paciente, mais econômico, melhor aceitação devido à longa história de uso na medicina popular e ser renovável por estar disponível na natureza (GUR; TURGUT-BALIK; GUR, 2006; PAREKH; CHANDA, 2007).

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo avaliou a atividade antimicrobiana de óleos essenciais do gênero Laranja 5F; Laranja 10F; Limão siciliano; Mandarina verde e dos mesmos óleos combinados entre si, sobre algumas bactérias; no caso, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium e *Staphylococcus aureus*.

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 5F (L5F), Laranja 10F (L10F), Limão siciliano (LS), Mandarina verde (MV). Em seguida foram dispostos 10 ml de cada óleo separadamente e combinados em béqueres 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 eficiente (HOFFMANN et al., 1999).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais sobre os diferentes microrganismos.

Bactéria	<i>B. cereus</i>		<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>		S. Enteritidis		S. Typhimurium	
	24H	48H	24H	48H	24H	48H	24H	48H	24H	48H
L5f	35	35	23	23	20	20	49	49	45	45
L10F	23	23	0	0	0	0	9	9	0	0
MV	25	25	15	15	7	7	0	0	21	21
LS	40	40	24	24	37	37	27	27	27	27
L5F+L10F	23	23	32	32	32	32	0	0	40	40
L5F+LS	17	17	45	45	17	17	33	33	50	50
L5F+MV	20	20	11	11	17	17	30	30	17	17
L10F+MV	40	40	23	23	38	38	30	30	31	31
L10F+LS	40	40	37	37	20	20	0	0	24	24
MV+LS	12	12	13	13	10	10	18	18	25	25

Com relação à bactéria *B. cereus* destacaram-se os óleos essenciais de LS e as combinações de L10F+MV e L10F+LS (halo de 40 mm). Atividade eficaz também foi verificada por outros pesquisadores sobre este mesmo microrganismo; Chaibub et al. (2013) ao testar o óleo essencial das

folhas de *Spiranthera odoratissima* (manacá) e Silva (2014) ao aplicar óleo de manjerona e louro.

Para a inibição sobre *B. subtilis* constatou-se ação mais eficiente dos óleos essenciais combinados de L5F+LS (halo de 45 mm), L10F+LS (halo de 37 mm) e L5F+L10F (halo de 32 mm). Ação eficaz também foi observada em pesquisas realizadas por Pessini et al. (2003) e Duarte et al. (2004), os quais testaram respectivamente extrato alcoólico das plantas *Piper regnellii* (pariparoba) e extrato alcoólico de *Aloysia gratissima* (Alfazema do Brasil).

No que se refere a *S. aureus*, os valores mais eficazes foram verificados para os óleos L10F+MV (halo de 38 mm), LS (halo de 37 mm) e L5F+L10F (halo de 32 mm). O óleo essencial de *Ocimum gratissimum* (alfavacão) inibiu esse microrganismo em trabalho desenvolvido por Geromini et al. (2012). Inibição eficiente foi verificada por Duarte (2006) ao testar o óleo essencial da planta *Aloysia triphylla* (aloesia) sobre esta bactéria.

*S. Enteritidis* foi inibida de maneira eficaz pelos óleos essenciais de L5F (halo de 49 mm), L5F+LS (halo de 33 mm) e L5F+MV e L10F+MV (halos de 30 mm). Óleo essencial de Malaleuca alternifolia (árvore de chá), óleo essencial de *Citrus limonia* (limão cravo) e óleo essencial de cravo da Índia, também exerceram ação eficaz sobre esta bactéria em trabalhos realizados respectivamente por Santos et al. (2016), Millezi et al. (2014) e Silva et al. (2015).

Sobre *Salmonella Typhimurium* a ação mais eficiente foi exercida pelo óleo essencial combinado de L5F+LS (halo de 50 mm). Para esta bactéria, Tonelli (2017) obteve resultados satisfatórios aplicando óleo essencial de folhas de pêssego.

O fenômeno de sinergismo é constatado quando o efeito das substâncias combinadas é maior que a soma dos efeitos individuais (DAVIDSON; PARISH, 1989), fenômeno este que pode ser observado para as combinações de L5F+L10F sobre *B. subtilis* e *S. aureus*; L10F+MV sobre *B. subtilis*, *S. aureus* e *S. Typhimurium*; L10F+LS sobre *B. subtilis*

Quanto aos óleos combinados, a mistura nos permitiu verificar o antagonismo, definido por Davidson e Parish (1989) como o efeito de uma ou ambas as substâncias se revelar menor quando aplicadas em combinação. Tal fenômeno foi verificado para as combinações dos óleos essenciais de L5F+LS sobre *B. cereus* e *S. aureus*; L5F+L10F sobre *S. Typhimurium* e *S. Enteritidis*; L5F+MV

sobre *S. Typhimurium*, *B. subtilis*, *B. cereus* e *S. Enteritidis*; L10F+LS sobre *S. Typhimurium*, *S. aureus*, *S. Enteritidis*; MV+LS sobre *S. Enteritidis* e *B. cereus*.

## CONCLUSÃO

Os melhores resultados foram observados para o óleo essencial de Laranja 5F, principalmente sobre as bactérias *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* e *B. cereus*. A bactéria *B. cereus* foi inibida de maneira eficaz por todos os óleos testados.

## REFERÊNCIAS

BOULANOUAR, B. et al. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, v.46, p.85-96, 2013.

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

CHAIBUB, B. A. et al. Composição química do óleo essencial e avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial, extrato etanólico bruto e frações das folhas de *Spiranthera odoratissima* A. St.-Hil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 2, p. 225-229, 2013.

DAVIDSON, P. M.; PARISH, M. E. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technology*, v. 43, p. 148 – 155, 1989.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. *Revista MultiCiência*, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.

DUARTE, M. C. T. et al. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de espécies da coleção de plantas medicinais CPQBA/UNICAMP. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Maringá, v. 14, p. 06-08, 2004.

FERREIRA, A. et al. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 108, n.1, p.31-37, 2006.

- GEROMINI, K. V. N. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas medicinais. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, v. 15, n. 2, p. 127-131, 2012.
- GUR S.; TURGUT-BALIK D.; GUR N. Antimicrobial activities and some fatty acids of turmeric, ginger root and linseed used in the treatment of infectious diseases. *World Journal of Agricultural Sciences*, v.2, n. 4, p. 439-442, 2006.
- 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.
- MELO, N.R. et al., Nisina: um conservante natural para alimentos. *Revista Ceres*, v.52, n.303, p.921-938, 2005.
- MILLEZI, A. F. et al. Caracterização química e atividade antimicrobiana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, v. 16, n. 1, p. 18-24, 2014.
- NAZZARO, F. et al. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, v.6, n.12, p.1451-1474, 2013.
- OKPEKON, T. et al. Antiparasitic activities of medicinal plants used in Ivory Coast. *Journal of Ethnopharmacology*, v.90, n.1, p.91-97, 2004.
- PAREKH, J.; CHANDA, S. V. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. *Turkish Journal of Biology*. V. 33, p. 53-58, 2007.
- PESSINI, G. L. et al. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 13, p. 21-24, 2003.
- SACCHETTI, G. et al. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, v.91, n.4, p.621-632, 2005.
- SANTOS, J. C. et al. Atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólicos de plantas frente à *Staphylococcus aureus* isolados de bovinos com mastite. *Revista Científica Univiçosa*, v. 8, n. 1, p. 130-136, 2016.
- SILVA, A. A. et al. Avaliação da atividade óleos essenciais de *Thimus vulgaris* (tomilho), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-india) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e dos conservantes benzoato de sódio e sorbato de potássio em *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. *Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v. 33, n. 1, p. 111-117, 2015.
- SILVA, R. M. M. da. Avaliação da atividade antimicrobiana de condimentos portugueses e óleos essenciais de plantas aromáticas frente a bactérias patogênicas e/ou deteriorantes de alimentos. Vila Real, 2014. 100 f. Dissertação (Mestrado em Segurança Alimentar) – Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- SOKMEN, S. et al. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. *Food Control*, v. 15, n. 8, p. 627-634, 2004.
- TIWARI, B.K. et al. Application of Natural Antimicrobials for Food Preservation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 57, p.5987-6000, 2009.
- TONELLI, M. Ação antimicrobiana de óleos essenciais de sucupira branca (*Pterodon emarginatus*); folhas de pêssego (*Prunus persica*); bagas de junipero (*Juniperus communis*); rosa de damasco (*Rosa damascena*); petitgrain mandarina (*Citrus deliciosa*). Catanduva, 2017. 33 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) – Instituto Municipal de Ensino Superior de Catanduva, 2017.