



BIOENSAIO MICROBIOLÓGICO DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DO AÇAFRÃO DA ESPÉCIE *Curcuma longa* (ZINGIBERACEAE)

Leticia V. A. da Silva^{1,2*}; Ana G. C. Pereira^{1,2}; Stherfany M. D. da Silva^{1,2}; Alessandro P. de Souza^{1,2}; Ana C. G. R. de Melo²; Gisele G. de Oliveira³; Antonio A. M. Filho⁴.

¹ Departamento de Química da Universidade Federal de Roraima - UFRR;

² Laboratório de Química Ambiental do NPPGCT, Diretoria de Pesquisa, da Universidade Federal de Roraima - UFRR;

³ Universidade Federal de Rondônia - UNIR;

⁴ Departamento de Química, Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Biotecnologia - Rede BioNorte da Universidade Federal de Roraima - UFRR.

*leticia.anchietan@gmail.com

Palavras-Chave: Plantas Medicinais, Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), Atividade Antimicrobiana.

Introdução

O Ministério da saúde estima que anualmente, uma a cada 10 pessoas adoecem, no mundo, devido ao consumo de algum alimento contaminado, enquanto que a doença gastroenterite, é a mais comum das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) afetará 550 milhões de pessoas causando, aproximadamente, 230 mil mortes. No período de janeiro de 2007 a dezembro de 2015 identificou-se um total de 2.243 (34,37%) dos surtos, sendo os principais agentes etiológicos causadores a *Salmonella* (25,17%), *Escherichia coli* (23,42%) e *Staphylococcus* (18,61%) (BRASIL, 2020).

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) têm sido uma dificuldade enfrentada pelos consumidores, tornando-se uma preocupação iminente para a saúde pública (MAJOLO et al., 2014). Dentre alguns fatores que as DTAs estão atreladas destaca-se o aumento populacional, à fabricação de alimentos em grande escala e à extensa produção de alimentos de pronto consumo. A grande maioria das ocorrências de contaminação alimentar são causadas por bactérias e vírus (SIRTOLI; COMARELLA, 2018).

Outro exemplo, é a crescente utilização de fármacos sintetizados provenientes de substâncias químicas produzidas pelas indústrias, que podem gerar riscos prejudiciais aos seres vivos (PALUDO et al., 2019).

A *Curcuma longa* Linn conhecida como açafrão, é nativa da região asiática e pertence à família Zingiberaceae, os rizomas são amplamente utilizados como condimentos na área alimentícia (TERAMOTO et al., 2018). Infelizmente, as folhas acabam se tornando um produto residual do uso de seu rizoma. Diversos estudos apontam atividade antibacteriana, antimicrobiana (PÉRET-ALMEIDA et al., 2018) e até anticâncer (DE ARAÚJO et al., 2015), devido às substâncias presentes no açafrão. Investigações anteriores mostraram atividade antimicrobiana a partir do óleo essencial de açafrão frente a patógenos relacionados à DTA (MAJOLO et al., 2014).

As folhas de *C. longa* são grandes com formato alongado e coloração verde dispostas em espigas compridas (MARCHI et al., 2016). Os óleos essenciais são extraídos do metabolismo secundário das plantas que funcionam como adaptação e defesa. Esses, são misturas voláteis, complexas, constituídas quimicamente por monoterpenos e sesquiterpenos que podem ser influenciadas por condições adversas do meio ambiente (MOSSMANN et al., 2024).

Portanto, o presente estudo tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana in vitro do óleo essencial das folhas frescas de *C. longa* frente à inóculos bacterianos padrões

como *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 e *Staphylococcus aureus* ATCC 29212, como opção de conservante natural, e também como uso fitoterápico em combate ao consumo excessivo de fármacos sintéticos, tendo em vista que o óleo essencial é obtido de uma fonte natural, o estudo abrange a sustentabilidade e a utilização da biodiversidade, considerando que as folhas seriam descartadas.

Material e Métodos

O material vegetal foi obtido no município de Caroebe-RR, com as coordenadas geográficas 00° 53' 02" N 59° 41' 46" W e, posteriormente, levado ao laboratório de Química Ambiental da Universidade Federal de Roraima, para a devida seleção e higienização. A extração do óleo essencial das folhas frescas de *C. longa* ocorreu através da hidrodestilação, utilizando-se o Clevenger adaptado, método muito utilizado para extrair óleos essenciais (SILVEIRA, 2012).

Para realizar o bioensaio, adaptou-se a metodologia de Cutrim (2019) onde utilizou-se os microrganismos *P. aeruginosa* ATCC 27853 e *S. typhimurium* ATCC 14028 que são bactérias Gram-negativas, e *S. aureus* ATCC 29212 bactéria Gram-positiva. Inicialmente, realizou-se um pré-inóculo dos microrganismos, que foram transferidos do meio de cultura onde estavam conservados, para um tubo de ensaio contendo 3 mL de Ágar BHI que é utilizado para o crescimento dos microrganismos. Em seguida, os tubos foram incubados em estufa a 35 °C.

Após o período de 24 h, o conteúdo do pré-inóculo foi transferido para Erlenmeyer contendo água destilada estéril, para realizar o ajuste da concentração. Realizou-se o ajuste até alcançar a marca de transmitância de 74-75% de bactérias a 600 nm, que corresponde à escala 0,5 de McFarland de turbidez padrão, ou seja, 105 UFC mL⁻¹, obtendo a suspensão de inóculos padrão utilizada no bioensaio.

O óleo essencial das folhas frescas de *C. longa* foi solubilizado em dimetilsulfóxido (DMSO) com concentração de 12,5 mg mL⁻¹, o qual retirou-se uma pequena alíquota de 40 µL que, posteriormente, foi adicionada à 920 µL do meio de cultura utilizado, obtendo uma solução padrão de 500 µL mL⁻¹, à esta solução foi adicionado 10% v/v de emulsificante polisorbato 80 (Tween 80). O bioensaio foi realizado em triplicata, utilizando uma placa com 96 micropoços, onde adicionou-se 100 µL do inóculo do microrganismo padronizado em cada poço. Realizou-se 4 controles, um para controle de esterilidade do meio de cultura, contendo meio de cultura e água destilada estéril com 100 µL cada, e 10% v/v de emulsificante Tween 80. Outro para controle de crescimento em meio de cultura, visando verificar a viabilidade celular. Controle positivo substituindo a solução padrão por ampicilina, que é um antibiótico comercial muito utilizado e o branco utilizando as mesmas concentrações avaliadas, porém, substituindo o inóculo por água destilada estéril.

As microplacas foram incubadas por 16 h em estufa a 35 °C, e após este período realizou-se a leitura em leitor de placas a 490 nm. O cálculo da porcentagem de inibição foi realizado através da Equação 1.

$$\text{Inibição (\%)} = 100 - \left(\frac{AM-AB}{AC} \right) \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde, AM é a absorbância da amostra; AB é a absorbância do branco; AC é a absorbância do controle de crescimento do microrganismo menos a absorbância do controle de esterilidade do meio de cultura.

Resultados e Discussão

O óleo essencial obtido a partir das folhas de *C. longa* apresentou coloração amarela translúcida e odor forte característico de óleos essenciais (MOSSMANN, 2024), o rendimento médio foi de 0,36%, concordante com valores encontrados por Teramoto et al., (2018) que variam de 0,27% a 1,01%.

Por, frequentemente, atingirem a saúde humana utilizou-se os microrganismos *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* e *S. aureus* (SIRTOLI; COMARELLA, 2018). Os valores descritos na Tabela 1 são referentes a porcentagem 250 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de inibição. A ação antimicrobiana dos óleos essenciais estão associadas a princípios ativos, como o sabineno e mirceno (REIS et al., 2020) que estão presentes no óleo essencial das folhas de açafraão e correspondem a 0,4% e 3% dos compostos, respectivamente, para Teramoto et al., (2018).

Tabela 1. Resultados do bioensaio no óleo essencial das folhas de açafraão frente a bactérias.

| Microrganismos | Óleo essencial | Ampicilina |
|-----------------------|------------------|------------------|
| <i>P. aeruginosa</i> | 15,69 \pm 0,76 | 97,61 \pm 0,49 |
| <i>S. typhimurium</i> | 11,69 \pm 5,95 | 98,01 \pm 0,65 |
| <i>S. aureus</i> | 20,22 \pm 0,85 | 97,15 \pm 0,09 |

As cepas testadas apresentaram sensibilidade frente ao óleo essencial das folhas de *C. longa*, porém os resultados inferiores encontrados, quando comparados a ampicilina, podem ser justificados pelas características dos microrganismos quando em contato com o óleo essencial.

A maior atividade microbiana encontrada foi observada frente a bactéria *S. aureus*, que revelou uma inibição moderada quando comparado a ampicilina, que é um fármaco sintetizado com bioativo isolado, frente ao óleo essencial que possui diversos bioativos em sua composição. Segundo Franco et al., (2007) em seu estudo o óleo essencial de *C. longa*, também apresentou atividade antimicrobiana frente à *S. aureus*. Esta, é uma bactéria que causa infecções de diferentes intensidades em humanos, pesquisas anteriores mostram que o açafraão inibiu o crescimento desta bactéria de forma significativa (PÉRET-ALMEIDA et al., 2018), se mostrando um bom conservante natural e fitoterápico.

No que tange a análise de suscetibilidade, constatou-se que o óleo essencial inibe moderadamente a bactéria *P. aeruginosa*. O microrganismo é um agente causador de infecções hospitalares (TERAMOTO et al., 2018) que pode ser adquirido através de alimentos mal armazenados ou negligências de higiene. Estudos apontam que ocorreu inibição frente ao extrato do rizoma (PANGEMANAN et al., 2016), mas para o óleo extraído das folhas não apresentou atividade (TERAMOTO, 2018). A bactéria é conhecida por apresentar certa resistência a fármacos (OLIVEIRA, 2022) o que pode justificar a baixa inibição. Em concentrações maiores pode se tornar um fármaco promissor, visto que atualmente, há poucas opções terapêuticas para o tratamento de infecções causadas por *P. aeruginosa* (OLIVEIRA, 2022).

Trabalhos revelam que os óleos essenciais do açafraão possuem uma ação mais efetiva frente às bactérias gram-positivas, mostrando-se mais resistentes quando comparado às bactérias gram-negativas como por exemplo a *Salmonella* (MAJOLO et al., 2014). Acredita-se que a membrana externa composta por lipopolissacarídeos, presente na parede celular de bactérias gram-negativas, restrinja a inibição dificultando a disseminação de determinadas classes de compostos presentes no óleo essencial, no interior da célula (SALES et al., 2020; MAJOLO et al., 2014; CUTRIM, 2019). Portanto, foi possível observar que nesta espécie, *S. typhimurium* houve a menor concentração inibitória quando comparado às demais bactérias.



Embora a presente pesquisa não tenha apresentado resultados com altas concentrações de inibição frente aos patógenos testados, estes corroboram para a comunidade acadêmica e local pois sua composição química pode ser influenciadas por condições adversas do meio ambiente que está inserida.

Conclusões

Tendo como base o estudo realizado, foi possível investigar a atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *C. longa* frente às bactérias *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. typhimurium* ATCC 14028 e *S. aureus* ATCC 29212, indicando um potencial agente antimicrobiano natural, podendo ser utilizado como conservante ou fitoterápico, principalmente para bactérias gram-positivas. Comprovando que há em sua composição química, fitoconstituintes capazes de apresentar atividade antimicrobiana.

Agradecimentos

Ao grupo de pesquisa Oleoquímicos por todo incentivo e auxílio e ao CNPq pela bolsa de iniciação científica de pesquisa.

Referências

- Brasil, Boletim Epidemiológico, **Secretaria de Vigilância em Saúde - Ministério da Saúde**, 51(22), 16-26, 2020.
- Cutrim, E. S. M.; Teles, A. M.; Mouchrek, A. N.; Mouchrek Filho, V. E.; Everton, G. O. Avaliação da atividade antimicrobiana e antioxidante dos óleos essenciais e extratos hidroalcoólicos de *Zingiber officinale* (Gengibre) e *Rosmarinus officinalis* (Alecrim). **Revista Virtual Química**, 11(1), 60-81, 2019.
- De Araújo, R. G. M.; Chaves, D. A.; Lemes, S. R.; De Melo-Reis, P. R.; De Araújo, L. A.; De Paiva, E. S.; Da Silva, C. B. Estudo de caso: Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial do açafrão (*Curcuma longa*). **Revista Estudos - Revista de Ciências Ambientais e Saúde (EVS)**, 42(4), 425-431, 2015.
- Franco, A. L. P.; Oliveira, T. B.; Ferri, P. H.; Bara, M. T. F.; de Paula, J. R. Avaliação da composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook) Tronc. (Alfazema), *Ocimum gratissimum* L. (Alfavaca-cravo) e *Curcuma longa* L. (Açafrão). **Revista Eletrônica de Farmácia**, 4(2), 208-220, 2007.
- Machi, J. P.; Tedesco, L.; Melo, A. C.; Frasson, A. C.; França, V. F.; Sato, S. W.; Lovato, E. C. W. *Curcuma longa* L., o açafrão da terra, e seus benefícios medicinais. **Arq. Cienc. Saúde UNIPAR**, 20(3), 189-194, 2016
- Majolo, C.; Nascimento, V. P.; Chagas, E. C.; Chaves, F. C. M. Atividade antimicrobiana do óleo essencial de rizomas de açafrão (*Curcuma longa* L.) e gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) frente a salmonelas entéricas isoladas de frango resfriado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 16(3), 505-512, 2014.
- Oliveira, A. F. M.; da Silva, F. L.; Morais, F. M.; da Silva, R. T.; dos Santos, R. R. L.; da Silva, L. L. W. V.; Oliveira, J. M.; do Nascimento, C. C.; Cesar, K. K. F. A. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a bactérias patogênicas de importância clínica. **Research, Society and Development**, 11(13), 2022.
- Paludo, P. P.; Schimiloski, R. N.; Almeida, B. L.; Pinto, F. A. C.; Olguin, C. F. A.; Martins, C. V. B. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial e extratos da *Curcuma longa*. **Acta Iguazu**, 8(5), 13-20, 2019.
- Pangemanan, A.; Fatimawali; Budiarso, F. Uji daya hambat ekstrak rimpang kunyit (*Curcuma longa*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas* sp. **eBiomedik**, 4(1), 2016.
- Péret-Almeira, L.; Naghetini, C. C.; Nunan, E. A.; Junqueira, R. G.; Glória, M. B. A. Atividade antimicrobiana in vitro do rizoma em pó, dos pigmentos curcuminóides e dos óleos essenciais da *Curcuma longa* L. **Ciência e Agrotecnologia**, 32(3), 875-881, 2008.
- Reis, J. B.; Figueiredo, L. A.; Castorani, G. M.; Veiga, S. M. O. M. Avaliação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais contra patógenos alimentares. **Brazilian Journal of health Review**, 3(1), 342-363, 2020.
- Sales, E. H.; Everton, G. O.; Rosa, P. V. S.; Conceição, C. E. P.; Pinheiro, F. S.; Chagas, S. N. L.; Batista, C. L. M. Secagem, toxicidade e potencial antimicrobiano do óleo essencial de *Curcuma longa* L. **Research, Society and Development**, 9(8), 2020.



63º Congresso Brasileiro de Química
05 a 08 de novembro de 2024
Salvador - BA

Silveira, J. C.; Busato, N.; Costa, A.; Junior, E. C. Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais. **Enciclopédia Biosfera**, 8(15), 2038-2052, 2012.

Sirtoli, D. B.; Comarella, L. O papel da vigilância sanitária na prevenção das doenças transmitidas por alimentos (DTA). **Revista Saúde e Desenvolvimento**, 12(10), 197-209, 2018.

Teramoto, J. R. S.; Facanali, R.; Duarte, M. C. T.; Fabri, E. G.; Azevedo Filho, J. A.; Soares, D. M.; Marques, M. O. M. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas senescentes de *Curcuma longa* L. **Revista Intellectus**, 44(1), 2018.