

Óleos essenciais no controle in vitro de bactérias patogênicas e deterioradoras de alimentos

Essential oils in the vitro control of foodborne pathogens and spoilage bacteria

DOI:10.34117/bjdv9n4-083

Recebimento dos originais: 17/03/2023

Aceitação para publicação: 17/04/2023

Terezinha Feitosa Machado

Doutora em Bioquímica pela Universidade Federal do Ceará (UFC)

Instituição: Embrapa Agroindústria Tropical

Endereço: Dra. Sara Mesquita, 2270, Planalto Pici, Fortaleza - Ceará

E-mail: terezinha.feitosa@embrapa.br

Rita de Cássia Alves Pereira

Doutora em Fitotecnia pela Universidade Federal de Lavras (UFLA)

Instituição: Embrapa Agroindústria Tropical

Endereço: Dra. Sara Mesquita, 2270, Planalto Pici, Fortaleza - Ceará

E-mail: rita.pereira@embrapa.br

Hilton César Rodrigues Magalhães

Mestre em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo (USP)

Instituição: Embrapa Agroindústria Tropical

Endereço: Dra. Sara Mesquita, 2270, Planalto Pici, Fortaleza - Ceará

E-mail: hilton.magalhaes@embrapa.br

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana, in vitro, dos óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown contra microrganismos patogênicos e deterioradores de alimentos. Os óleos foram extraídos por hidrodestilação e caracterizados quanto à composição química por cromatografia gasosa. A atividade antimicrobiana dos óleos foi determinada pelo método de difusão em ágar e, as concentrações inibitórias e bactericidas mínimas foram determinadas pelo método de microdiluição em caldo. As espécies bacterianas utilizadas foram *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella choleraesuis*. Os principais componentes identificados no óleo de *C. citratus* foram geraniol e neral, enquanto os componentes majoritários do óleo de *L. alba* foram e-citral e neral. Os dois óleos apresentaram atividade antimicrobiana contra todas as espécies bacterianas testadas. A zona de inibição do óleo de *C. citratus* variou de $33 \pm 2,8$ mm (*S. aureus*) a $10 \pm 0,0$ mm (*S. choleraesuis*) e a zona de inibição do óleo de *L. alba* variou de $15,5 \pm 0,7$ mm (*S. aureus*) a $8,0 \pm 0,0$ mm (*P. aeruginosa*). As concentrações inibitórias mínimas (CIM) e as concentrações bactericidas mínimas (CBM) do óleo essencial de *L. alba* foram menores para *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *L. innocua* e *E. coli*, enquanto que o óleo de *C. citratus* apresentou CIM e CBM menores para *P. aeruginosa* e *S. choleraesuis*. Os resultados mostram que os óleos essenciais avaliados podem ser uma alternativa eficiente para o controle de bactérias patogênicas e deterioradoras de alimentos.

Palavras-chave: *Cymbopogon citratus*, *Lippia alba*, antibacterianos, plantas medicinais.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate, in vitro, the antimicrobial activity of the essential oils of *Cymbopogon citratus* and *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown against pathogenic and food spoilage bacteria. The oils were extracted by hydrodistillation and analyzed for composition by gas chromatography. The antimicrobial activity of the oils was determined by agar diffusion method and the minimum inhibitory and bactericidal concentrations were determined by micro plate method in broth. The bacterial species used were *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella choleraesuis*. The main components identified in the *C. citratus* essential oil were geranial and neral, while the major components of *L. alba* essential oil were e-citral and neral. Both oils showed antimicrobial activity against all bacterial species tested. The zone of inhibition of *C. citratus* ranged from 33 ± 2.8 mm (*S. aureus*) 10 ± 0.0 mm (*S. choleraesuis*) and the zone of inhibition of the *L. alba* oil ranged from 15.5 ± 0.7 mm (*S. aureus*) to 8.0 ± 0.0 mm (*P. aeruginosa*). Minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) of *L. alba* essential oil were lower for *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *L. innocua* and *E. coli*, while the oil of *C. citratus* presented CIM and CBM minors for *P. aeruginosa* and *S. choleraesuis*. The results show that essential oils can be assessed an efficient alternative for the control of pathogenic and food spoilage bacteria.

Keywords: *Cymbopogon citratus*, *Lippia alba*, antibacterial, medicinal plants.

1 INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos são uma das principais preocupações globais em saúde pública. A contaminação de alimentos com patógenos é responsável pela mortalidade e morbidade que afetam a vida das pessoas, a economia e o desenvolvimento social dos países (Prado-Silva et al, 2022). Várias espécies bacterianas, como *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*, produtora de toxina Shiga, podem causar doenças uma vez presentes nos alimentos (Gallo et al, 2020).

Outro desafio é a deterioração microbiana que leva a mudanças na qualidade do alimento, tornando-os indesejáveis e impróprios para o consumo, promovendo perdas econômicas significativas e desperdício de suprimentos alimentares humanos (Odeyemi et al, 2020).

A adaptação bacteriana, impulsionada pelo uso extensivo de antimicrobianos, é um dos fatores que têm contribuído para o aumento das doenças transmitidas por alimentos. Razão pela qual se recomenda o uso prudente de antimicrobianos e tem

despertado o interesse de processadores de alimentos, pesquisadores e agências regulatórias por produtos naturais com atividade bactericida (Quesada et al, 2016).

Diferentes compostos com atividade antimicrobiana presentes nas plantas são considerados potenciais agentes naturais para extensão da vida de prateleira e segurança microbiológica dos alimentos (Barboza et al, 2021; Batiha et al, 2021).

Lippia alba (Mill.) N.E. Brown é uma planta aromática amplamente utilizada em toda a América do Sul e Central para diferentes fins (Glamočlija et al, 2011). Vários trabalhos têm apresentado estudos etnofarmacológicos que mostram *L. alba* com propriedades sedativas, antidepressivas e analgésicas (Hennebelle et al, 2008, Ventura et al, 2019). O seu óleo essencial também tem diferentes atividades biológicas, como citotóxicas, antifúngicas, antibacterianas, antivirais e anti-inflamatórias (Costa et al, 2004; Džamić et al, 2008; Machado et al, 2014; Mesa-Arango et al., 2009; Sena Filho et al., 2006).

Cymbopogon citratus (DC.) Stapf é uma Poaceae é uma planta perene aromática tropical, conhecida como capim-limão, nativa da Índia e distribuída mundialmente em zonas tropicais e subtropicais (Madi et al, 2020). Suas folhas são utilizadas popularmente sob a forma de infusão como sedativo e estudos comprovam sua eficiência antiespasmódica, analgésica, bactericida, inseticida e fungicida (Ekpenyong et, 2015, Oliveira et al., 2010; Pinto et al, 2015, Wan et al, 2019). O seu óleo essencial é caracterizado pela elevada presença de citral, que é utilizado como matéria prima de importantes compostos químicos denominados iononas, utilizados na perfumaria, na síntese de vitamina A e ao qual se atribui a atividade antimicrobiana do óleo (Silva et al, 2019).

O relatado da atividade antimicrobiana de óleos essenciais derivados de uma mesma espécie de planta é frequentemente muito diferente. As diferenças são associadas a fatores como colheita de diferentes localizações geográficas, genótipo, condições climáticas dentre outros (Morais, 2009, Machado et al, 2014). Portanto, a composição e a atividade bactericida dos óleos essenciais obtidos de plantas cultivadas em uma determinada região precisam ser caracterizadas. Neste contexto, o objetivo do presente estudo foi determinar a composição química dos óleos essenciais de *C. citratus* e *L. alba* obtidos de plantas cultivadas no município Paraipaba - CE e avaliar sua atividade antimicrobiana contra espécies de bactérias que podem causar intoxicação alimentar e deterioração de alimentos.

2 MATERIAL E MÉTODO

2.1 MATERIAL VEGETAL

Amostras de folhas de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown e *Cymbopogon citratus* foram obtidas de plantas provenientes do campo experimental da Embrapa Agroindústria Tropical, localizados no município de Paraipaba, Ceará. Vouchers com os números 73.791 e 73.792 foram obtidos para *L. alba* e *C. citratus* respectivamente, do herbário da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (CENARGEN) e identificados pelo Dr. Bruno Machado Teles Walter.

2.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

As folhas de *L. alba* e *C. citratus* foram secas em estufa a 40 °C por 48 h, de acordo com a metodologia proposta por Campos et al. (2014). Após a secagem, as folhas foram trituradas, pesadas e foram submetidas a um sistema de hidrodestilação do tipo Clevenger por cerca de 4 h.

2.3 CROMATOGRAFIA GASOSA (GC) ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS

A caracterização química dos óleos foi determinada por análises de cromatografia gasosa realizadas em um cromatógrafo GC Varian CP-3800. Para a separação foi utilizada uma coluna capilar CP-Sil 8 CB de fase estacionária 5% fenil-95% polidimetilsiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). As temperaturas do injetor e detector foram 250 °C e 260°C, respectivamente. A Programação forno cromatográfico foi de temperatura inicial 70 °C, rampa de aquecimento de 4°C min⁻¹ até 180°C e de 25°C min⁻¹ até 250 °C. A contribuição de cada composto volátil na mistura foi dada pela área relativa (%) do seu respectivo pico no cromatograma registrado pelo detector FID. As amostras foram analisadas em duplicata.

Os compostos voláteis foram isolados, identificados e quantificados em um cromatógrafo a gás acoplado a espectrômetro de massa (Shimadzu GCMS-QP2010) usando coluna capilar DB-5MS 5% fenil-95% polidimetilsiloxano (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). O sistema CG/EM foi equipado com a mesma coluna e programa de temperatura usado na CG. As análises foram realizadas usando hélio como gás de transporte com fluxo de 1,5 mL.min⁻¹. A identificação dos compostos foi realizada pela análise dos padrões de fragmentação exibidos nos espectros de massas, confirmada por comparação dos seus espectros de massas com a base de dados fornecida pelo

equipamento (NIST02), bem como através da comparação dos seus índices de retenção com os de compostos conhecidos, obtidos por injeção de uma mistura de padrões contendo uma série homóloga de alcanos C9-C21.

2.4 MICRORGANISMOS

Os óleos essenciais foram individualmente testados contra *Escherichia coli* ATCC 10536, *Listeria innocua* ATCC 19115, *Listeria monocytogenes* ATCC 33090, *Pseudomona aeruginosa* ATCC 9027, *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P. Todas as culturas foram mantidas a -80 °C em caldo Infusão de cérebro e coração (BHI, Merck, Marcy l'Etoile, France) contendo 10 % de glicerol. As culturas foram preparadas pelo subcultivo de 100 µL de cada cultura estoque em 9 mL de BHI e incubadas a 35 °C por 18h. Na sequência foram diluídas em solução salina 0,85% até alcançar turbidez similar a do tubo 0,5 da escala de McFarland (Biomérieux Inc. Darmstadt, Germany), correspondente a $1,5 \times 10^8$ ufc/mL.

2.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana dos óleos sobre as bactérias testadas foi realizada pelo método de difusão em ágar de acordo com o documento M2-A8 do NCCLS (2003a) com modificações. Suspensões microbianas (10^6 ufc/mL) foram inoculadas na superfície de placas de Petri contendo 20 mL de ágar Mueller-Hinton (Becton-Dickson, USA). Poços de 5 mm de diâmetro foram assepticamente perfurados sobre a superfície do ágar e 25 µL de cada diluição binária do óleo em tween 80 1 % (Vetec, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brasil) foram adicionados aos poços. As placas foram mantidas à temperatura ambiente para permitir a dispersão do óleo e posteriormente incubadas em condições ótimas para o crescimento de cada espécie bacteriana alvo. A atividade antimicrobiana foi avaliada visualmente como zona de inibição do crescimento microbiano em torno dos poços. Soluções estéreis de Tween 80 1 % e amicacina 1,2 mg/mL (Sigma-Aldrich co., St Louis, MO, EUA) foram usados como controle negativo e positivo, respectivamente. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

2.6 CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) E CONCENTRAÇÃO BACTERICIDA MÍNIMA (CBM)

A concentração inibitória mínima (CIM) dos óleos essenciais contra as seis espécies bacterianas foi determinada usando o método da microdiluição em caldo, de

acordo com o documento M7-A6 do NCCLS (2003b). Os poços das microplacas foram adicionados com 80 µL da suspensão microbiana (10^6 UFC/mL), 80 µL do caldo BHI e 20 µL de diluições binárias de cada óleo. Nos poços-controle foram adicionados 80µL das suspensões microbianas, 100 µL de caldo BHI e 20 µL de solução estéril de amicacina 1,2 mg/mL ou de Tween 80 1%. A concentração bactericida mínima (CBM) foi determinada a partir das microplacas usadas nos ensaios da CIM, com modificações. Alíquotas de 50 µL de cada poço sem crescimento visível foram transferidas para placas de ágar padrão (Merk). Após incubação por 24 horas a 35°C foi realizada a contagem das colônias crescidas sobre a superfície do meio. A concentração do óleo capaz de determinar um crescimento microbiano inferior a 0,1% do inóculo inicial foi considerada como a CBM. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

2.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os experimentos foram conduzidos em delineamento estatístico inteiramente casualizado, com duas repetições, em duplicata. As médias foram comparadas através da diferença mínima significativa (DMS), usando o teste de Tuckey a nível de 5%.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

A composição química dos óleos essenciais do *C. citratus* e *L. alba* foi determinada usando as técnicas de CG e CG/EM. No óleo essencial de *C. citratus* foram identificados sete componentes representando 97,44 % do total, sendo obtidos em maiores quantidades os compostos geranial (50,28%) e neral (36,42%) (Tabela 1). Geranial e neral são estereoisômeros e a mistura constitui o citral. Assim, observa-se que os constituintes majoritários encontrados no óleo utilizado neste estudo assemelham-se aos encontrados nos trabalhos consultados. Oussalah et al (2007) encontraram como principais constituintes do óleo essencial de *C. citratus*, geranial (45 %), neral (32 %) e limoneno (9 %). Essas substâncias além de conferir ação antimicrobiana ao óleo são usadas na produção de vitamina A e β-caroteno. Outro componente que se destaca é o mirceno, um hidrocarboneto acíclico, que se polimeriza e resinifica-se quando exposto à luz, além de potencializar o efeito antimicrobiano do citral (Onawunmi et al., 1984, Ferrua et al., 1994; Carlson et al., 2001; Martins et al., 2012).

Na avaliação do óleo essencial de *L. alba* foram identificados 36 constituintes, correspondendo a 99,33%. De acordo com os dados da Tabela 2, observa-se que os componentes majoritários e-citral e neral representaram 57,06% do óleo obtido. O

terceiro componente de maior concentração foi o d-limonemo com teor de 14,07%, seguido por germacreno D (5,47%) e b-elemol (5,37%). A composição química do óleo essencial de *L. alba* contendo elevados teores de citral e neral também foi observada em outros trabalhos (Castro et al., 2002; Barbosa & Barbosa, 2006). Contudo, vários estudos demonstram que a espécie apresenta grande diversidade em seus constituintes, tendo sido identificados quimiotipos com altos teores de germacreno-D (Zoghbi et al., 1998), linalol (Atti et al., 2002) e carvona (Stashenko et al., 2004). Todavia, a comparação da composição química dos óleos verificada neste experimento com os obtidos na literatura, não deve ser feita em valores absolutos, pois de acordo com Jannuzzi et al. (2011), além do genótipo as condições edafoclimáticas, manejo de produção, colheita, pós-colheita, processo de extração e método de análise exercem influência na constituição química dos óleos, que são constituídos de um grupo heterogêneo de misturas de substâncias orgânicas.

Tabela 1 – Constituintes químicos do óleo essencial de folhas de *Cimbopogon citratus*.

Componentes	IK ¹	%
b-mirceno	992	8,1
Linalol	1098	0,56
Neral	1238	36,42
Cis-geraniol	1250	1,78
Geraniol	1268	50,28
b-Cariofileno	1415	0,16
trans-Bergamoteno	1423	0,18
Total identificado		97,44

¹Índices de Kovats calculados.

Tabela 2 – Constituintes químicos do óleo essencial de folhas de *Lippia alba*.

Componentes	IK ¹	%
alfa-Tujeno	927	0,31
alfa-Pineno	936	0,03
Sabineno	976	0,80
6-Metil-5-hepten-2-ona	987	0,12
Mirceno	990	0,46
a-Felandreno	1010	0,04
4-Careno	1021	0,13
para-Cimeno	1029	1,56
d-Limoneno	1033	14,07
g-Terpineno	1061	4,10
4-Thujanol	1073	0,34
Linalol	1098	0,67
Citronelal	1151	0,07
Borneol	1174	0,10
Z-Geraniol	1226	1,15
Neral	1238	25,50
Carvona	1247	0,84
E-Geraniol	1250	0,77
E-Citral	1267	31,57
a-Copaeno	1372	0,07

Germacreno D	1476	5,47
Biciclogermacreno	1489	0,66
delta-Guaieno	1499	0,12
gama-Cadineno	1508	0,50
b-Elemol	1543	5,37
Nerolidol	1557	0,20
Germacreno-D-4-ol	1571	0,15
Guaiol	1590	0,56
a-Eudesmol	1649	0,57
Bulnesol	1666	0,63

¹Índices de Kovats calculados.

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *C. citratus* e *L. alba* foi avaliada em termos de zonas de inibição do crescimento microbiano, geradas por difusão dos componentes dos óleos em placas de ágar contra espécies Gram positivas (*S. aureus*, *L. monocytogenes* e *L. innocua*) e Gram negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. choleraesuis*). A Tabela 3 mostra a inibição do crescimento alcançado pelos óleos avaliados.

Tabela 3 – Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais pelo método de difusão em ágar.

Óleo essencial	Diâmetro da zona de inibição (mm) ¹ incluindo o diâmetro dos poços de 5mm					
	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. choleraesuis</i>
<i>C. citratus</i>	33±2,8 ^a	23±0,0 ^b	23± 0,0 ^b	17±0,0 ^c	14±1,4 ^d	10±0,0 ^e
<i>L. alba</i>	15,5±0,7 ^a	10,0±0,7 ^b	10,5±0,7 ^b	9,0±1,4 ^{bc}	8,0±0,0 ^d	9,0±0,0 ^c

¹Os valores são média ± desvio padrão de dois experimentos. Letras minúsculas diferentes sobrescritas na mesma linha indicam diferenças significativas (p<0,05).

Para o óleo essencial de *C. citratus* observou-se que todas as espécies testadas foram susceptíveis à ação do óleo com diferenças significativas. As zonas de inibição do crescimento das espécies Gram positivas (*S. aureus*, *L. monocytogenes* e *L. innocua*) foram maiores do que as das Gram negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. choleraesuis*). *S. aureus* foi a espécie mais sensível, apresentando a maior zona de inibição (33 ± 2,8 mm), enquanto *S. choleraesuis* foi a menos sensível com zona de inibição de 10 ± 0,0 mm de diâmetro. A forte atividade antibacteriana do óleo foi confirmada pelos baixos valores das CIM e CBM observadas contra todas as espécies testadas (Tabela 4). Os resultados mostram que para *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. choleraesuis* os valores das CIM correspondem aos das CBM, indicando que o efeito do óleo é bactericida nas concentrações apresentadas para cada espécie. Contudo, para *L. innocua* a CIM (0,62 mg/mL) foi diferente da CBM (1,25 mg/mL), indicando que o óleo exerce um efeito bacteriostático e bactericida para este microrganismo. Os resultados

deste estudo estão de acordo com outros que avaliaram a atividade antibacteriana do óleo essencial de *C. citratus* (Doran et al., 2009; Valeriano et al., 2012). Sokovic & Griensven (2006) atribuíram a atividade antimicrobiana do óleo de *C. citratus* ao citral (geranial e neral). Todavia, Onawunmi et al (1984) demonstraram sinergismos entre os componentes do óleo, relatando que o composto mirceno não apresentou atividade antimicrobiana, mas quando associado ao citral potencializou o efeito deste. Posteriormente, Bakkali et al (2008) sugeriram que a atividade dos principais componentes do óleo essencial de *C. citratus* é modulada por outras moléculas que estão presentes em menor quantidade. Geranial, neral e limoneno foram relatados por Oussalah et al (2007) como os compostos responsáveis pela atividade antimicrobiana desse óleo e foram apresentados como ativos contra *S. aureus*, *E. coli*, *Enterobacter sakazakii*, *S. enteritidis*, *L. monocytogenes* e *Candida albicans*.

Tabela 4 – Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) dos óleos essenciais contra microrganismos de origem alimentar.

Microrganismo	<i>C. citratus</i>		<i>L. alba</i>	
	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)	CIM (mg/mL)	CBM (mg/mL)
<i>S. aureus</i>	0,62	0,62	0,29	0,29
<i>L. monocytogenes</i>	0,62	0,62	0,58	0,58
<i>L. innocua</i>	0,62	1,25	0,58	1,17
<i>E. coli</i>	1,25	1,25	1,17	1,17
<i>P. aeruginosa</i>	2,51	2,51	9,37	9,37
<i>S. choleraesuis</i>	2,51	2,51	9,37	9,37

O óleo essencial de *L. alba* apresentou atividade antimicrobiana em largo espectro, inibindo o crescimento de todas as espécies bacteriana testadas. As bactérias Gram positivas foram mais sensíveis à ação do óleo e a maior zona de inibição foi produzida contra *S. aureus* (15,5 ± 0,7 mm) (Tabela 3). Os valores obtidos para as CIM e CBM confirmam o potencial antimicrobiano deste óleo. Para as cepas de *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. choleraesuis* a CIM foi igual à CBM, enquanto que para *L. innocua* a CIM foi diferente da CBM, indicando que para esta espécie bacteriana o óleo tem ação bacteriostática na concentração 0,58 mg/mL e bactericida a 1,17 mg/mL (Tabela 4). A atividade antimicrobiana do óleo de *L. alba* é atribuída à presença de e-citral, neral e d-limoneno componentes majoritários presentes no óleo, com potencial efeito sobre microrganismos patogênicos e deterioradores de alimentos (Burt & Reinders, 2003). Os valores das CIM e CBM encontrados neste estudo foram maiores do que os relatados por Aquino et al (2010), que quantificaram 0,39 µg/mL para *S. aureus* e

12,5 µg/mL para *E. coli*. Todavia, foram similares aos valores relatados por Alea et al (1997) e Tavares et al (2005), que também observaram a maior sensibilidade das cepas Gram positivas quando comparadas às Gram negativas.

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *C. citratus* e *L. alba* foi mais pronunciada contra bactérias Gram positiva do que contra bactérias Gram negativa, fato previamente observado com o óleo essencial de outras espécies de plantas (Sandri et al., 2007; Gilles et al., 2010; Tyagi & Malik, 2011). Essa maior resistência das bactérias Gram negativas tem sido atribuída à presença de fosfolipídios na camada externa da membrana celular, tornando-a quase impermeável para os compostos lipofílicos. A ausência dessa barreira nas bactérias Gram positiva permite o contato direto dos constituintes hidrofóbicos dos óleos com a bicamada de fosfolipídio da membrana celular onde eles atuam, ou causando aumento da permeabilidade iônica e fuga dos constituintes intracelulares vitais, ou danificando o sistema enzimático da célula (Cox et al., 2000; Oussalah et al., 2006).

Uma característica interessante dos óleos essenciais de plantas em relação aos antimicrobianos sintéticos está relacionada com a sua composição química. Por serem constituídos por uma mistura de substâncias com atividade antimicrobiana, apresentam diferentes modos de ação. Assim, o risco dos microrganismos desenvolverem resistência a esses produtos é considerado muito baixo (Bakkali et al., 2008; Rahman & Kang, 2009). Esta é uma característica desejada para antimicrobianos que possam ser aplicados em alimentos a fim de lhes conferir vida útil mais longa e segurança microbiológica.

Este estudo mostrou que os óleos essenciais de *C. citratus* e *L. alba* possuem atividade antimicrobiana contra as seis espécies bacterianas testadas. O óleo de *L. alba* foi mais ativo, com as menores CIM, contra *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *L. innocua* e *E. coli*, enquanto que o óleo de *C. citratus* foi mais eficaz contra *P. aeruginosa* e *S. choleraesuis*. Assim, a seleção do óleo a ser aplicado como antimicrobiano deve levar em consideração os microrganismos alvo. Além disso, considerando que os constituintes dos óleos essenciais interagem com a matriz alimentar, estudos devem ser realizados em alimentos para confirmar o nível da eficiência antimicrobiana desses óleos e seu impacto organoléptico.

REFERÊNCIAS

- ALEA, JA et al. Composición y propiedades antibacterianas del aceite esencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. **Revista Cubana de Farmacología**, v.30, p.29-35, 1997.
- AQUINO, LCL et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de erva-cidreira e manjeriço frente a bactérias de carnes bovinas. **Alimentação e Nutrição**, v.21, p.529-535, 2010.
- ATTI, SL et al. Variation in essential oil yield and composition of *Lippia alba* (Mill) N.E.Br growing in the southern Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.4, n.2, p.72-74, 2002.
- BAKKALI, F et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p.446- 475, 2008
- BARBASO, FF & BARBOSA, LCA. Influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N.E.Brown. **Química Nova**, v.29, n.6, p.1221-1225, 2006.
- BARBOZA GR, ALMEIDA JM, SILVA NCC (2021) Use of natural substrates as an alternative for the prevention of microbial contamination in the food industry. *J. Food Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1590/fst.05720>.
- BATIHA, G. E-S.; HUSSEIN, D. E.; ALGAMMAL, A. M.; GEORGE, T. T.; JEANDET, P. Application of natural antimicrobials in food preservation: Recent views. *Food Control*, v. 126, 108066, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108066>.
- BURT, SA & REINDERS, RD. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Scherichia coli* O157:H7. **Letter Applied of Microbiology**, v. 36, p.162-167, 2003
- CAMPOS FG, BARON D, MARQUES MOM, FERREIRA G, BOARO CSF (2014) Characterization of the chemical composition of the essential oils from *Annona emarginata* (Schltdl.) H. Rainer'terra-fria'and *Annona squamosa* L. *Rev Bras Fruticult* 36:202-208. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452014000500024>
- CARLSON, LHC et al. Extraction of lemongrass essential oil with dense carbon dioxide. **Journal of Supercritical Fluids**, v.21, p.33-39, 2001.
- CASTRO, DM et al. Composição fitoquímica dos óleos essenciais de folhas de *Lippia alba* (Mill)N.E.Br em diferentes épocas de colheita e partes do ramo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.4, n.2, p.75-79, 2002.
- COSTA, M.C.C.D.; AGUILAR, J.S.; DO NASCIMENTO, S.C. Atividade citotóxica de extratos brutos de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown (Verbenaceae). **Acta Farmaceutica Bonaerenense** v.23, p.349-352, 2004.
- COX, SD et al. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal of Applied Microbiology**, v.88, p.170-175, 2000.

CRAVEIRO, AA et al. Óleo essencial de lemongrass. In: **Óleos essenciais de plantas do Nordeste**. Fortaleza: Edições UFC, 1981, p. 153.

DORAN, AL et al. Vapour-phase activities of essential oils against antibiotic sensitive and resistant bacteria including MRSA. **Letters in Applied Microbiology**, v.48, n.4, p.387-392, 2009.

DUARTE, MCT et al. Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.97, p.305-331, 2005.

DŽAMIĆ, A.; SOKOVIĆ, M.; RISTIĆ, M.; GRUJIĆ-JOVANOVIĆ, S.; VUKOJEVIĆ, J.; MARIN, P.D. Chemical composition and antifungal activity of *Salvia sclarea* (Lamiaceae) essential oil. **Archives of Biological Sciences**, v.60, p.233-237, 2008

EKPENYONG, C. E., AKPAN, E., NYOH A. Ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf extracts. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v.13, n.5, p321–337, 2015

FERRUA, FQ et al. Óleo essencial de capim-limão obtido por extração com dióxido de carbono líquido. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.14, Supl., p.83, 1994.

FRIEDMAN, M et al. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. **Journal of Food Protection**, v.65, p.1545-1560, 2002.

GALLO, M., FERRARA, L., CALOGERO, A., MONTESANO, D., NAVIGLIO, D. Relationships between food and diseases: what to know to ensure food safety, Food Research International (2020), doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109414>

GILLES, M et al. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian Eucalyptus species. **Food Chemistry**, v.119, p.731-737, 2010.

GLAMOČLIJA, J., SOKOVIĆ, M., TEŠEVIĆ, V., LINDE, G. A., COLAUTO, N. B. Chemical characterization of *Lippia alba* essential oil: an alternative to control green molds **Brazilian Journal Microbiology**, v.42, n.4, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000400041>

HARRISON, EM et al. Whole genome sequencing identifies zoonotic transmission of MRSA isolates with the novel *mecA* homologue *mecC*. **EMBO Molecular Medicine**, v.5, p.509-515, 2013.

HEALY, B et al. Cronobacter (*Enterobacter sakazakii*): an opportunistic foodborne pathogen. **Foodborne Pathogens and Disease**, n.7, p.339-350, 2010.

HEINZMANN, BM & BARROS, FMC. Potencial das plantas nativas brasileiras para o desenvolvimento de Fitomedicamentos tendo como exemplo *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (verbenaceae). **Saúde**, v. 33, n 1, p 43-48, 2007.

HENNEBELLE, T., SAHPAZ, S., JOSEPH, H., BAILLEUL, F. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.116, p.211-222, 2008.

JANNUZZI, H et al. Avaliação agronômica e química de dezessete acessos de erva-cidreira [*Lippia alba* (Mill)N.E.Br] – quimiotipo citral, cultivados no Distrito Federal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.3, p.258-264, 2011.

LAI, S et al. Swarming motility: a multicellular behavior conferring antimicrobial resistance. **Environmental Microbiology**, v.11, p.126-136, 2009.

MACHADO, T. F., NOGUEIRA, N. A. P., PEREIRA, R. C. A., SOUSA, C. T., BATISTA, V. C. V. The antimicrobial efficacy of *Lippia alba* essential oil and its interaction with food ingredients. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.45, n.2, p.699-705, 2014.

MACHADO, T. F., PEREIRA, R. C. A., BATISTA, V. C. V. Seasonal variability of the antimicrobial activity of the essential oil of *Lippia alba*. **Revista Ciência Agronômica**, v.45, n.3, p.515-519, 2014. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902014000300011>

MADI, Y. F., CHOUCRY, M. A., EL-MARASY, S. A., MESELHY, M. R., EL-KASHOURY, E.-S. A. UPLC-Orbitrap HRMS metabolic profiling of *Cymbopogon citratus* cultivated in Egypt; neuroprotective effect against AlCl₃-induced neurotoxicity in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 259 (2020) 112930.

MESA-ARANGO, AC et al. Citral and carvone chemotypes from the essential oils of Colombian *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown: composition, cytotoxicity and antifungal activity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, n.6, p.878-884, 2009.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v.27, n.2, S4050- S4063, 2009.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacterial that grow aerobically**. 6 ed. Wayne, 2003b. (Document M7-A6)

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: approved standards**. 8. Ed. Wayne, 2003a. (Document M2-A8).

NYCHAS, GJE et al. Antimicrobials from herbs and spices. In: S. M. Roller (Ed.). **Natural antimicrobials for the minimal processing of foods**. New York: Woodhead Publishers, CRC Press, 2003. p. 176-200.

ODEYEMI, O. A., ALEGBELEYE, O. O., STRATEVA, M., STRATEV, D. Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.19, n.2, p.311–331, 2020. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12526>

ONAWUNMI, GO et al. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. **Journal of Ethnopharmacology**, v.12, p.279-286, 1984.

OLIVEIRA, MMM et al. Disinfectant action of *Cymbopogon* sp. essential oils in different phases of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface. **Food Control**, v. 21, p. 549-553, 2010.

OUSSALAH, M et al Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Protection**, v.69, p.1046-1055, 2006.

OUSSALAH, M et al. 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**, v. 18, p. 414–420, 2007.

PINTO, Z. T., S´ANCHEZ, F. F., SANTOS, A. R. D., AMARAL, A. C. F., FERREIRA, J. L. P., ESCALONA-ARRANZ, J. C., & QUEIROZ, M. M. C. Chemical composition and insecticidal activity of *Cymbopogon citratus* essential oil from Cuba and Brazil against housefly. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.24, n.1, p.36–44, 2015. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612015006>.

PRADO-SILVA, L., BRANCINI, G. T.P., BRAGA, G. Ú.L., LIAO, X., DING, T., SANT´ANA A. S. Antimicrobial photodynamic treatment (aPDT) as an innovative technology to control spoilage and pathogenic microorganisms in agri-food products: An updated review. **Food Control**, v.132, (2022) 108527

QUESADA, A, REGINATTO, G. A., RUIZ ESPAÑOL, A, COLANTONIO, L. D., BURRONE, M. S. Resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2016;33(1):32-44. doi:10.17843/rpmesp.2016.331.1899

RAHMAN, A & KANG, SC. Inhibition of foodborn pathogens and spoiling bacteria by essential oil and extracts of *Erigeron ramosus* (Walt.) B.S.P. **Journal of Food Safety**, v.29, p.176-189, 2009.

SANDRI, IG et al. Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against foodborne pathogens and spoiling bacteria. **Food Chemistry**, v. 103, p.823–828, 2007.

SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks).(2010). Research strategy to address the knowledge gaps on the antimicrobial resistance effects of biocides. Disponível em: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/emerging/docs/scenihr_o_028.pdf. Acessado em: 10.06.2015.

SENA FILHO, JG et al. Antimicrobial activity and phytochemical profile from the roots of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n.4, p.506-509, 2006.

SEGARRA, S. M. T., CÁRDENAS, K. E. P. *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en alimentos. **Revista de Investigación en Salud**, v. 4 n.12, p.457- 469, 2021

SOKOVIC, M & GRIENSVEN, LJLD. Antimicrobial activity of essential oils and their components against the tree major pathogens of the cultivated button mushroom, *Agaricus bisporus*. **European Journal of Plant Pathology**, v.116, n.3, p.211-224, 2006.

SILVA, N. B., RANGEL, M. L., CASTRO, R. D., LIMA, J. M., CASTELLANO, L. R. C., VALENÇA, A. M. G., CAVALCANTI, A. L. Anti-biofilm and hemolytic effects of

Cymbopogon citratus (DC) Stapf essential oil. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v.19, n.1, p.1–10. 2019.
<https://doi.org/10.4034/PBOCI10.4034/PBOCI.2019.191.10.4034/PBOCI.2019.191.103>.

STASHENKO, EE et al. Comparison of different extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. **Journal of Chromatography A**, v.1025, n.1, p.93-1003, 2004.

TAVARES, ES et al. Análise do óleo essencial de folhas de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) cultivados em condições semelhantes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.5, p.1-5, 2005.

TYAGI, AK & MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. **Food Control**, v.22, p.1707-1714, 2011.

VALERIANO, C. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.1, p.57-67, 2012.

VENTURA, A. S., DE CASTRO SILVA, T. S., CARDOSO, C. A. L., & INOUE, L. A. K. A. Características do anestésico alternativo de erva cidreira (*Lippia alba*) e alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) em peixes. **Medicina Veterinária**, v.13, n.3, p.416-428, 2019.

WAN, J., ZHONG, S., SCHWARZ, P., CHEN, B., RAO, J. Physical properties, antifungal and mycotoxin inhibitory activities of five essential oil nanoemulsions: Impact of oil compositions and processing parameters. *Food Chemistry*, 291,199–206, 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.032>

ZOGHBI, MGB et al. Essential oils of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br growing wild in the Brazilian amazon. **Flavour and Fragrance Journal**, v.13, p.47-48, 1998.