



## ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ONZE ÓLEOS ESSENCIAIS FRENTE A *Vibrio parahaemolyticus* ISOLADOS DE PESCADO

D. R. Silveira<sup>1</sup>, C. K. Bierhals<sup>2</sup>, A. F. Carloto<sup>3</sup>, P. P. de Avila<sup>4</sup>, A. A. Fagundes<sup>5</sup>, G. V. Lopes<sup>6</sup>

1- Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos – Universidade Federal de Pelotas – CEP: 96160-000 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: 51 (53) 98126-4321 – e-mail: (debora.rsilveira@hotmail.com)

2- Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos – Universidade Federal de Pelotas – CEP: 96160-000 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: 51 (53) 98465-4181 – e-mail: (carolinekbierhals@gmail.com)

3 - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos – Universidade Federal de Pelotas – CEP: 96160-000 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: 51 (55) 99918-0548 – e-mail: (adrianafcarloto@hotmail.com)

4 - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos – Universidade Federal de Pelotas – CEP: 96160-000 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: 51 (53) 99170-3927 – e-mail: (palomaavila92@gmail.com)

5 - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos – Universidade Federal de Pelotas – CEP: 96160-000 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: 51 (53) 99976-5973 – e-mail: (adrieleazambuja97@gmail.com)

6 - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de alimentos – Universidade Federal de Pelotas – CEP: 96160-000 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: 51 (53) 98129-5199 – e-mail: (graciavlopes@yahoo.com)

**RESUMO** – *Vibrio* é um gênero bacteriano encontrado em ambientes marinhos, sendo responsável por surtos de gastroenterites e mortes devido ao consumo de pescado contaminado, especialmente a espécie *Vibrio parahaemolyticus*. O aumento da busca por métodos alternativos de conservação de pescado tem levado ao estudo de conservantes naturais, como os óleos essenciais (OEs), que apresentam potencial antimicrobiano eficaz e de baixo custo. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial antimicrobiano *in vitro* de 11 OEs frente a isolados de *V. parahaemolyticus*. A pesquisa revelou que os OEs de *Melaleuca alternifolia* (melaleuca), *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Thymus vulgaris* (tomilho), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) e *Cymbopogon citratus* (capim-limão ou capim-cidreira) demonstraram forte atividade antimicrobiana, com destaque para *Cymbopogon citratus*, que apresentou halos de inibição superiores a 60 mm contra a cepa de referência, havendo perspectiva de aplicação em pescado para controle de *V. parahaemolyticus*.

**ABSTRACT** – *Vibrio* is a bacterial genus found in marine environments, responsible for gastroenteritis and deaths due to the consumption of contaminated fish, especially the species *Vibrio parahaemolyticus*. The growing search for alternative methods of fish preservation has led to the study of natural preservatives, such as essential oils (EOs), which have effective and low-cost antimicrobial potential. The aim of this study was to evaluate the *in vitro* antimicrobial potential of 11 EOs against *V. parahaemolyticus* isolates. The research revealed that the EOs of *Melaleuca alternifolia*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Syzygium aromaticum*, and *Cymbopogon citratus* exhibited strong antimicrobial activity, with *Cymbopogon citratus* standing out, showing



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

inhibition halos larger than 60 mm against the reference strain, suggesting potential application in fish for the control of *V. parahaemolyticus*.

**PALAVRAS-CHAVE:** Óleos voláteis; capim-limão; peixe; conservantes naturais; segurança alimentar.

**KEYWORDS:** Volatile oils; lemongrass; fish; natural preservatives; food safety.

## 1. INTRODUÇÃO

*Vibrio spp.*, uma bactéria Gram-negativa encontrada em águas marinhas e costeiras, é uma das principais causadoras de gastroenterite e mortes associadas ao consumo de pescado em todo o mundo (Silva *et al.*, 2021), com destaque para *Vibrio parahaemolyticus* (Alasgah *et al.*, 2025). Com o aumento no número de casos de infecções e intoxicações alimentares associadas ao consumo de pescado, cresce a busca por métodos de conservação que garantam a qualidade e segurança desses alimentos (Baptista *et al.*, 2020). Os óleos essenciais (OEs), embora ainda pouco explorados, destacam-se como conservantes naturais que oferecem ação antimicrobiana eficaz e de baixo custo atribuída, principalmente, aos compostos majoritários que podem representar até 85% de sua composição (Baptista *et al.*, 2020). Estudos demonstram que eles podem ser usados em concentrações de 0,1 a 1,5 % em pescado (Hussain *et al.*, 2021, Mello *et al.*, 2020), sem produzir alteração de suas características sensoriais. No entanto, mesmo que promissora, a aplicação de OEs em proporções específicas e controladas em pescado deve ser melhor elucidada, principalmente para o controle de *Vibrio parahaemolyticus*. Com isso, o objetivo do presente estudo foi avaliar o potencial antimicrobiano de onze OEs frente a isolados selvagens de *Vibrio parahaemolyticus* obtidos de pescado comercializado no Sul do Rio Grande do Sul.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Os OEs de *Melaleuca alternifolia* (melaleuca - Lazlo, Belo Horizonte), *Citrus aurantium* (laranja-doce - Lazlo, Belo Horizonte), *Citrus limon* (limão - Lazlo, Belo Horizonte), *Rosmarinus officinalis* (alecrim - Lazlo, Belo Horizonte), *Thymus vulgaris* (tomilho - Lazlo, Belo Horizonte), *Curcuma longa* (cúrcuma - Lazlo, Belo Horizonte), *Salvia officinalis* (salvia - Lazlo, Belo Horizonte), *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia - Lazlo, Belo Horizonte), *Mintostachys mollis* (muña - Pukllay Herbolaria EIRL) e *Piper elongatum* (matico - Pukllay Herbolaria EIRL) foram adquiridos



comercialmente. Além desses, o óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim-limão ou capim-cidreira) extraído e cedido por um grupo de pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), da Universidade Federal de Pelotas, foi incluído no estudo.

Foram selecionados para o estudo oito isolados selvagens confirmados anteriormente como *V. parahaemolyticus* pela presença do gene *tlh* obtidos das espécies *Micropogonias furnieri* (corvina) – 2 exemplares, *Carcharhinus* spp. (cação), *Mugil platanus* (tainha) e *Farfantpnaeus paulensis* (camarão-rosa), cujas coletas foram realizadas no período de fevereiro a abril de 2024, no mercado Central de Pelotas. Cinco dos oito isolados foram classificados como multirresistentes. A cepa de referência ATCC®17802 foi utilizada para fins de comparação e controle.

Os isolados previamente reativados, foram diluídos até a concentração  $10^7$  UFC mL<sup>-1</sup> (concentração determinada por densidade óptica e contagem em placas) e distribuídos uniformemente, com auxílio de *swabs* estéreis, na superfície do ágar Mueller Hinton (Kasvi, Roseto Degli Abruzzi, Itália), acrescido de 1% NaCl. Discos de papel de filtro estéreis de seis milímetros de diâmetro foram depositados no centro da placa e, em seguida, impregnados com 10 µL dos óleos a serem testados. As placas, depois de absorvido o inóculo completamente, foram incubadas invertidas a 37 °C por 24 h.

Após o período de incubação, as zonas de inibição foram medidas e o resultado expresso em milímetros (mm). O experimento foi realizado em duas repetições biológicas. As médias das medidas dos halos de inibição foram classificadas de acordo com a escala estipulada por Carović-Stanko *et al.* (2010), sendo considerada forte atividade inibitória quando os halos de inibição foram maiores que 15 mm; atividade inibitória moderada quando os halos variaram de 10 a 15 mm e atividade não inibitória quando os tamanhos dos halos foram inferiores a 10 mm.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os OEs de *M. alternifolia* (melaleuca), *R. officinalis* (alecrim), *T. vulgaris* (tomilho), *S. aromaticum* (cravo-da-índia) e *C. citratus* (capim-limão ou capim-cidreira) apresentaram forte ação antimicrobiana *in vitro* frente a maioria dos isolados de *V. parahaemolyticus* (Tabela 1). Com destaque aos halos de *C. citratus* que apresentaram diâmetros superiores a 60 mm frente a cepa de referência e diâmetros de até 54 mm quando testados frente aos isolados selvagens, embora para dois isolados a ação tenha sido moderada. Em contraste, os demais OEs apresentaram uma atividade



antimicrobiana considerada moderada a fraca, sugerindo que sua eficácia pode ser mais limitada ou dependente de fatores específicos, como a concentração ou a composição química dos óleos.

Em estudos anteriores, o OE de *M. alternifolia* demonstrou eficácia contra várias bactérias patogênicas, incluindo *V. parahaemolyticus*, confirmada por disco difusão em ágar (Ji, 2019). De acordo com os autores o OE de *M. alternifolia* tem demonstrado potencial antimicrobiano devido à presença de compostos como terpineol-4, cineol e sesquiterpenos. Os resultados corroboram os resultados encontrados no presente trabalho, em que a atividade antimicrobiana do OE de *M. alternifolia* foi evidente frente a *V. parahaemolyticus* apresentando halos de em média 18 a 21,5 mm, considerado forte ação antimicrobiana frente a todos aos isolados testados.

De acordo com Snoussi *et al.* (2018) o OE de *R. officinalis* é rico em 1,8-cineol (43,49%),  $\alpha$ -pineno (13,45%), canfeno (5,86%) e borneol (6,14%), enquanto que o OE de *Thymus vulgaris* e de *S. aromaticum* apresentam alta concentração de carvacrol (60,27%) e eugenol (88,58%), respectivamente, compostos conhecidos por suas propriedades antimicrobianas. Esses compostos bioativos presentes nos OEs têm mecanismos de ação distintos, mas complementares, que podem ser responsáveis pela atividade antimicrobiana observada frente à diferentes patógenos, como aos isolados selvagens de *V. parahameolyticus* do presente estudo, agindo por diferentes vias de interação com as células bacterianas, incluindo a inibição da síntese de proteínas, lipídios e outros processos vitais para o microrganismo (Snoussi *et al.* 2018).

O OE de *C. citratus*, além de apresentar forte atividade antimicrobiana, também pode inibir a formação de biofilmes microbianos. Segundo Alasgah *et al.* (2025), o OE de *C. citratus* demonstrou capacidade de inibir a formação de biofilme de *V. parahaemolyticus* em concentrações subinibitórias. Em suma, dentre os OEs testados contra *Vibrio parahaemolyticus*, o *C. citratus* foi o mais promissor em termos de eficácia, demonstrando os maiores halos de inibição. Tais achados revelam que o OE de *C. citratus* pode ser uma alternativa aos conservantes sintéticos e ao uso excessivo de antibióticos. Futuros estudos podem explorar a aplicação desse óleo em maior escala, avaliando sua eficácia em matrizes alimentares e em condições industriais.



**Tabela 1** - Classificação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais frente a isolados de *Vibrio parahaemolyticus* pelo método de disco-difusão em ágar (média de duas repetições)

Isolado	Origem	Atividade antimicrobiana dos Óleos Essenciais (média do tamanho dos halos em mm)										
		<i>Melaleuca altemifolia</i>	<i>Citrus aurantium</i>	<i>Citrus limon</i>	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Curcuma longa</i>	<i>Salvia officinalis</i>	<i>Syzygium aromaticum</i>	<i>Minthostachys mollis</i>	<i>Piper elongatum</i>	<i>Cymbopogon citratus</i>
ATCC17802	-	18	0	0	14	40,5	0	12,5	27,5	14	>60	>60
1G	<i>Micropogonias furnieri</i>	18	0	0	9,5	45,5	0	11	23	10,5	15	35
5M	<i>Carcharhinus</i> spp.	18	0	0	11,5	56	0	0	16,5	11	12,5	12
10G	<i>Farfantpnaeus paulensis</i>	18,5	0	0	10	43,5	0	0	17,5	10	14,5	14,5
13M	<i>Mugil platanus</i>	17,5	9	8,5	18	47	0	12,5	25	14	11	15,5
33 P	<i>F. paulensis</i>	21	10,5	11	19,5	42,5	0	12	23	14	14,5	52
33 M	<i>F. paulensis</i>	21	13	10	19,5	61	0	11	20	12	16,5	36
33 G	<i>F. paulensis</i>	21,5	12	12,5	19,5	45	0	10,5	16,5	10,5	18,5	15,5
43	<i>M. furnieri</i>	21,5	11,5	12,5	19	44,5	0	11	22	16,5	24	51

Forte ação antimicrobiana: halo  $\geq$  15 mm; moderada ação antimicrobiana: 10 mm < halo < 15 mm; fraca ação antimicrobiana: halo  $\leq$  10 mm



19 A 21 DE MAIO DE 2025 | BENTO GONÇALVES | RS

#### 4. CONCLUSÕES

Os OEs de *M. alternifolia* (melaleuca), *R. officinalis* (alecrim), *T. vulgaris* (tomilho), *S. aromaticum* (cravo-da-índia) e *C. citratus* (capim-limão ou capim-cidreira) demonstraram atividade antimicrobiana frente à isolados de *V. parahaemolyticus*, sugerindo que esses OEs podem ser eficazes como agentes antimicrobianos para a conservação de pescado e prevenção de surtos de vibriose transmitidos por alimentos. O estudo destaca a importância da pesquisa de conservantes naturais seguros, eficazes e de baixo custo para a indústria de alimentos

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALASGAH, A. A., AHMED, G. E., EL BAYOMI, R. M., MAHMOUD, A. F. A., EL-TAHLAWY, A. S., ABDALLAH, K. M., MORSHDY, A. E. M. Antibiofilm potential of cumin and lemongrass essential oils against multidrug-resistant *Vibrio parahaemolyticus* in retailed fish samples. **Food Control**, v. 172, p. 111162, 2025.

BAPTISTA, R. C., HORITA, C. N., SANT'ANA, A. S. Natural products with preservative properties for enhancing the microbiological safety and extending the shelf-life of seafood: A review. **Food research international**, v. 127, p. 108762, 2020.

CAROVIC-STANKO, K., ORLIC', S., POLITEO, O., STRIKIC', F., KOLAK, I., MILOS, M. SATOVIC, Z. Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum* taxa. **Food Chemistry**, v. 119, p. 196–201, 2010.

HUSSAIN, M. A., SUMON, T. A., MAZUMDER, S. K., ALI, M. M., JANG, W. J., ABUALREESH, M. H., SHARIFUZZAMAN, S. M., BROWN, C. L., LEE, H. T., LEE, E. W., HASAN, M. T. Essential Oils and Chitosan as Alternatives to Chemical Preservatives for Fish and Fisheries Products: A Review. **Food Control**, v. 129, p. 108244, 2021.

Jl, K. Antimicrobial effects of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) extracts. **Journal of the Korea Academia-Industrial Cooperation Society**, v. 20, n. 5, p. 102-108, 2019.

MELLO, G. S., ROSA, J. F., DA SILVEIRA, D. R., VIVIAN, P. G., CERESER, N. D., TIMM, C. D. Antimicrobial activity of essential oils of *Origanum vulgare* and *Ocimum basilicum* against *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus* and addition of these oils on *Mugil platanus* filets. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 46, n. 4, 2020.

SILVA, N., JUNQUEIRA, V. C. A., SILVEIRA, N. F. A., TANIWAKI, M. H., GOMES, R. A. R., OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Editora Blucher: São Paulo, 6ª ed. 2021.

SNOUSSI, M., HAJLAOUI, H., NOUMI, E., USAI, D., SECHI, L. A., ZANETTI, S., BAKHROUF, A. In-vitro anti-*Vibrio* spp. activity and chemical composition of some unisian aromatic plants. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 24, p. 3071-3076, 2008.