

Influência da secagem nos potenciais biológicos do óleo essencial de *Bixa orellana* L.

Influence of drying on the biological potentials of *Bixa orellana* L. essential oil

Influencia del secado en los potenciales biológicos del aceite esencial *Bixa orellana* L.

Recebido: 06/07/2020 | Revisado: 08/07/2020 | Aceito: 13/07/2020 | Publicado: 31/07/2020

Everton Holanda Sales

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9497-9103>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: everhs16@gmail.com

Paulo Victor Serra Rosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1782-5896>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: paullovictorserra@gmail.com

Nilton Silva Costa Mafra

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5353-0596>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: nilton.mafra@hotmail.com

Liane Batista da Cruz Soares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9548-3911>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: lianebatistadacruz@hotmail.com

Ricardo Victor Seguins Duarte

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1239-2104>

Universidade Estadual do Maranhão, Brasil

E-mail: ricardovictor.br@gmail.com

Andressa Almeida Santana Dias

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1671-8338>

Faculdade UNINASSAU São Luís, Brasil

E-mail: andressasantana@gmail.com

Andressa Teixeira Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3236-2722>

Faculdade Laboro, Brasil

E-mail: nutriandressateixeira@gmail.com

Lizandra Kelly Serra Nunes

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4399-6296>

Hospital Geral de Monção, Brasil

E-mail: lizandra.kelinha@gmail.com

Thayane Lopes de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5383-9350>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: thayane.lopes@discente.ufma.br

Maria Giulia Alvez Carneiro Felizardo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1921-9067>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: giullia.73@hotmail.com

João Pedro Mesquita Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1833-9814>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: joao-p01@live.com

Gustavo Oliveira Everton

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0457-914X>

Universidade Federal do Maranhão, Brasil

E-mail: gustavooliveiraeverton@gmail.com

Resumo

Objetivou-se avaliar a influência da temperatura da secagem das folhas de *Bixa orellana* L. nas propriedades biológicas dos óleos essenciais (OE's) obtidos. O material vegetal foi coletado e submetido a estufa convectiva de ar em temperaturas entre 35-55 °C. Os OE's foram obtidos através de hidrodestilação. O ensaio antimicrobiano foi realizado a partir do Método de Difusão de Disco frente a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Para o bioensaio de toxicidade avaliou-se a letalidade dos OE's frente a *Artemia salina*. Foram observadas diferenças significativas nas propriedades dos OE's. A temperatura de 45 °C permitiu obter a ação bactericida mais eficiente frente aos microrganismos testados e a toxicidade também foi verificada para o OE obtido nesta temperatura. Este estudo conclui através das atividades analisadas que a temperatura de secagem influencia nas propriedades dos OE's e a temperatura de 45° é afirmada como a mais indicada para *B. orellana* em virtude do melhor desempenho das propriedades tanto no ensaio antimicrobiano quanto de toxicidade.

Palavras-chave: Óleo essencial; *Bixa*; Folhas.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the influence of drying temperature of *Bixa orellana* L leaves. the biological properties of the essential oils (EOs) obtained. The plant material a was collected and submitted to a convectiva greenhouse of air at temperatures 35-55 °C. The EOs were obtained by hydrodistillation. The antimicrobial assay was performed using the Disk Diffusion Method against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. For the biotoxicity assay, the lethality of the EOs in front of *Artemia salina* was evaluated. Significant differences were observed in the properties of OE's. The temperature of 45 °C allowed to obtain the most efficient bactericidal action against the microorganisms tested and the toxicity was also verified for the EO obtained at this temperature. This study concludes through the analyzed activities that the drying temperature influences the properties of EOs and the temperature of 45° is stated as the most indicated for *B. orellana* due to the better performance of the properties both in the antimicrobial assay and toxicity.

Keywords: Essential oil; *Bixa*; Leaves.

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar la influencia de la temperatura de secado de las hojas de *Bixa orellana* L. de las propiedades biológicas de los aceites esenciales (AE) obtenidos. El material vegetal fue recogido y sometido a un convectivo invernadero de aire a temperaturas 35-55 °C. Los OE se obtuvieron por hidrodestálo. El ensayo antimicrobiano se realizó a partir de lo Método de difusión de disco contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Para el ensayo de biotoxicidad, se evaluó la letalidad de las AE frente a *Artemia salina*. Se observaron diferencias significativas en las propiedades de los AE. La temperatura de 45 °C permitió obtener la acción bactericida más eficiente contra los microorganismos analizados y también se verificó la toxicidad para la AE obtenida a esta temperatura. Este estudio concluye a través de las actividades analizadas que la temperatura de secado influye en las propiedades de los AE y la temperatura de 45 °C se indica como la más indicada para *B. orellana* debido al mejor rendimiento de las propiedades tanto en el ensayo antimicrobiano como en la toxicidad.

Palabras clave: Aceite esencial; *Bixa*; Hojas.

1. Introdução

A secagem e o armazenamento são etapas fundamentais entre os processos pós-colheita para a obtenção de produtos de qualidade, que são a base para a fabricação de fitoterápicos. A secagem é um procedimento complexo devido à estrutura e composição do material, aos fenômenos de transporte envolvidos e à variabilidade biológica. A taxa de secagem depende de variáveis como temperatura, velocidade, umidade relativa do ar seco e características do produto. Assim, a modelagem matemática e a simulação desse processo são ferramentas úteis para lidar com sua complexidade e obter condições operacionais adequadas (Castro et al., 2018; Martinazzo et al., 2013).

Portanto, os efeitos positivos e negativos do processo de secagem dependem das condições e de acordo com a sensibilidade das substâncias químicas, que podem ser perdidas pela volatilização, como é o caso dos óleos essenciais (OE's) (Lemos et al., 2012; Ozdemir et al., 2018). Além disso, os OE's são usados em formulações tópicas, por terem ação antimicrobiana, podem inibir o crescimento bacteriano e promover o processo de cicatrização de feridas, proporcionando uma melhor alternativa ao tratamento (Modarresi et al., 2019).

Estas várias combinações de constituintes químicos apresentadas pelos OEs podem controlar a oxidação de alimentos e bactérias que têm resistência consistentemente alta a agentes antimicrobianos como *Salmonella cholerasuis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Embora o OE represente uma possibilidade interessante para a preservação dos alimentos, é necessário conhecer suas propriedades antibacterianas e antioxidantes (Gutierrez et al., 2008; Hyldgaard et al., 2012). Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da secagem na toxicidade do OE das folhas por *B. orellana*.

2. Metodologia

2.1. Coleta, seleção e preparo do material vegetal

As folhas frescas coletadas de *B. orellana* L. para realização da cinética de secagem foram depositadas no Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão sob o registro de n°00815, na cidade de São Luís-MA, em julho de 2019. As folhas foram coletadas manualmente pela manhã, e o material foi transportado em embalagens térmicas para o Laboratório de Pesquisa e Aplicação de Óleos Essenciais da Universidade Federal do

Maranhão (UFMA) para triagem, determinação do teor de água e secagem em estufa digital de ar convectivo FANEM 520. Além disso, as folhas foram selecionadas a partir dos aspectos visuais, utilizando apenas material vegetal não danificado. Foram feitos cortes manuais, com cautela na padronização dos cortes, onde os cortes foram realizados transversalmente em partes de no máximo 5 cm de comprimento e 2 cm de largura.

2.2. Secagem e obtenção dos óleos essenciais

A secagem das folhas de *B. orellana* L. foi realizada estufa digital de ar convectivo FANEM 520, com velocidade do ar padrão em 1 m/s, em dias alternados utilizando as temperaturas de 35, 45 e 55 °C em lotes diferentes e a umidade relativa do ar (RH) do ar ambiente foi monitorada através de um termômetro digital (modelo INS-28 Intrusul).

Para extração de cada OE obtido das folhas secas em 35-55 °C, utilizou-se a técnica de hidrodestilação com um extrator de Clevenger de vidro acoplado a um balão de fundo redondo acondicionado em manta elétrica como fonte geradora de calor. Foram utilizadas 200g das folhas secas de *B. orellana*, adicionando-se água destilada (1:10). A hidrodestilação foi conduzida a 100°C por 3h recolhendo-se o OE extraído. Cada OE foi seco com sulfato de sódio (Na₂SO₄) e armazenado para posteriores análises.

2.3. Atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi realizada segundo a técnica de difusão de disco do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2015) que padroniza os testes de sensibilidade de antimicrobianos por disco-difusão, utilizando-se suspensões padronizadas de cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) distribuídas em placas contendo meio de cultura Ágar Mueller Hinton (AMH) acrescidas de discos contendo 20 µL do OE. Como controle positivo utilizou-se Gentamicina (30 µg). As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 °C/24 h. Os diâmetros dos halos de inibição foram mensurados. Esses ensaios foram feitos em triplicata.

2.4. Ensaio de toxicidade

Este ensaio foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Meyer et al. (1982). Para a avaliação da letalidade de *Artemia salina* Leach, foi preparada uma solução

salina estoque de cada OE na concentração de 10.000 mg L⁻¹ e 0,02 mg de Tween 80 (tenso ativo). Foram realizadas diluições a fim de obtermos concentrações de 10, 100 e 1000 mg L⁻¹, respectivamente. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas, onde dez larvas na fase náuplio foram transferidas para cada um dos tubos de ensaio. Para o branco utilizou-se 5 mL da solução salina, para o controle positivo K₂Cr₂O₇ e para o controle negativo 5 mL uma solução 4 mg L⁻¹ de Tween 80. Após 24 horas, realizou-se a contagem das larvas vivas, considerando-se mortas aquelas que não se movimentaram durante a observação e nem com a leve agitação do frasco. Adotou-se o critério estabelecido por Dolabela (1997) para classificação da toxicidade. A análise estatística dos dados foi realizada de acordo com o método de Reed&Muench (1938).

3. Resultados e Discussão

3.1. Atividade antimicrobiana de OE's

O resultado do ensaio antimicrobiano é visualizado por um halo de inibição formado pela capacidade do OE de inibir o crescimento microbiano, assim os diâmetros dos halos de inibição para a ação dos OE's contra as bactérias são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Diâmetro dos halos de inibição (mm) para ação do OE.

Microorganismos	OE 35°C	OE 45 °C	OE 55 °C
	Diâmetro dos halos de inibição (mm)		
<i>E. coli</i>	NI*	12 (11-13)	NI*
<i>S. aureus</i>	7 (6-7,5) mm	21 (20-21,5)	NI*

Nota: *NI: Não houve inibição do microrganismo pela ação do OE testado; Fonte: Autores.

De acordo com Moreira et al. (2005) as bactérias são consideradas sensíveis à ação dos OE's quando apresentam halos de inibição superiores a 9 mm, tendo em vista a ação desses produtos naturais. A partir dessa classificação, foi possível verificar que a *E. coli* era sensível apenas à ação de OE extraído das folhas de *B. orellana* secas a 45°C. Para *S. aureus* apenas o OE das folhas secas a 35 e 55 °C não mostrou atividade bactericida. Os resultados observados no teste de difusão do disco apresentados na Tabela 1 mostram que o OE obtido pela secagem *B. orellana* L. a 45 °C foi mais eficiente na inibição da bactéria *S. aureus*,

revelando um halo de inibição de 21 mm, comparando com OE obtido usando a temperatura de 35 °C onde inibiu a mesma bactéria em apenas 7 mm, enquanto o OE obtido da planta seca a 55 °C não apresentou potencial biológico bactericida. Portanto, o potencial bactericida foi definitivo na escolha da temperatura de secagem. Para a bactéria *E. coli*, a temperatura de secagem novamente influenciou o potencial biológico do OE. O OE obtido a partir das folhas secas a 45 °C apresentou o melhor desempenho bactericida com um halo de 12 mm e novamente o OE de 55 °C não apresentou potencial bactericida, bem como o OE de 35°C.

Estudos já relataram a ação inibitória de *B. orellana* L. em *S. aureus*. Gonçalves, et al. (2005) realizaram testes com extrato comercial de sementes de annatto em bactérias Gram-positivas, incluindo *S. aureus* e comprovou que apresentava halos de inibição de atividade antimicrobiana de 15 mm. Em outra pesquisa feita por Silva et al. (2018) confirmaram atividade antimicrobiana de extrato de sementes maduras na bactéria *S. aureus* e *E. coli* com halo de 18 mm e 12 mm de diâmetro, respectivamente.

3.2. Toxicidade dos Oes

Os resultados obtidos no ensaio de toxicidade dos OE's são apresentados na Tabela 2, , onde é possível observar que o aumento da concentração letal aumenta com o aumento da temperatura. A toda a temperatura, o OE de folhas de *B. orellana* mostrou-se não tóxico.

Tabela 2. CL₅₀ para ação dos OEs contra *Artemia salina*.

OE	CL ₅₀	Classificação
35 °C	261,11 (256,01-266,21) mg L ⁻¹	Atóxico
45 °C	280,25 (277,95-282,55) mg L ⁻¹	Atóxico
55 °C	315,44 (311,00-319,88) mg L ⁻¹	Atóxico

Fonte: Autores.

O ensaio de toxicidade in vitro contra *Artemia salina* é um bioensaio rápido e de baixo custo e tem sido uma das ferramentas mais utilizadas para avaliação preliminar de toxicidade e pode ser usado na triagem de novos medicamentos antiespasmódicos e antimaláricos (Ameen, et al., 2011; Kpadonou Kpoviessi et al., 2012). A toxicidade é classificada a partir da obtenção de CL₅₀ (Concentração Letal 50%) para a ação do OE contra larvas de *Artemia salina* . Uma CL₅₀. Muitos estudos têm demonstrado que a toxicidade de

um composto contra *Artemia salina* se correlaciona com a atividade citotóxica contra tumores humanos, McLaughlin et al. (1998) relatou que este bioensaio levou à descoberta de uma nova classe de agentes ativos antitumorais ativos, e também está relacionado à atividade contra o *Trypanosoma cruzi*, um protozoário causando a doença de chagas (Alves et al., 2000; Zani et al., 1995), e com as atividades viruscida, antifúngica e antimicrobiana (McRae et al., 1988).

Em um estudo conduzido por Aseervatham et al. (2012) ao utilizar extratos das folhas de *B. orellana* mostrou um efeito não tóxico contra *Artemia salina*, demonstrando que extratos de outras partes da mesma planta podem conter diferentes ingredientes ativos, que podem afetar toxicamente contra as mesmas espécies testadas. Vilar et al. (2015) constataram que as raízes apresentaram resultados negativos para toxicidade para *Artemia salina*. Assim, os resultados apresentados mostram a importância do estudo com o OE, sendo que foi verificada atoxicidade no produto obtido.

4. Considerações Finais

Através dos resultados obtidos, a temperatura de secagem a 45 °C é a mais indicada para a espécie *B. orellana* L., neste estudo. Uma vez que, nesta temperatura, apresentou a melhor atividade bactericida do OE obtido e atoxicidade frente *Artemia salina*, incentivando assim seu potencial de aplicação. Como propostas futuras sugere-se o estudo da influencia da secagem na composicao quimica dos OE's extraídos.

Referências

Almeida, F., Berni, J. V., Medeiros, J., Siqueira, N. W., & Pereira, N. C. (2015). Cinética da secagem da semente de Moringa oleifera lam. *Blucher Chemical Engineering Proceedings*, 2, 1638-1647.

Alves, T. M. d. A., Silva, A. F., Brandão, M., Grandi, T. S. M., Smânia, E. d. F. A., Smânia Júnior, A., & Zani, C. L. (2000). Biological screening of Brazilian medicinal plants. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95(3), 367-373.

Ameen, O., Usman, L., Oladosu, I., Olawore, N., & Ogunwande, I. (2011). Bioactivity of rhizome essential oils from two varieties of *Cyperus articulatus* (L.) grown in Nigeria, using

brine shrimp (*Artemia salina*) lethality tests. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(6), 1031-1033.

Aseervatham, S. B., Sasikumar, J., & Kumar, D. (2012). Studies on in vitro free radical scavenging activity of *Bixa orellana* L. bark extract. *Int J Pharm Pharm Sci*, 4(2), 719-726.

Castro, A., Mayorga, E., & Moreno, F. (2018). Mathematical modelling of convective drying of fruits: A review. *Journal of Food Engineering*, 223, 152-167.

Dolabela, M. (1997). *Triagem in vitro para atividade antitumoral e anti Trypanossoma cruzi de extratos vegetais, produtos naturais e substâncias sintéticas. 1997. 128p.* Dissertação (Mestrado)-Instituto de Ciências Biológicas, Universidade

Gonçalves, A., Alves Filho, A., & Menezes, H. (2005). Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. *Arquivos do Instituto Biológico*, 72(3), 353-358.

Gutierrez, J., Barry-Ryan, C., & Bourke, P. (2008). The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International journal of food microbiology*, 124(1), 91-97.

Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, 3, 12.

Kpadonou Kpoviessi, B. G., Ladekan, E. Y., Kpoviessi, D. S., Gbaguidi, F., Yehouenou, B., Quetin-Leclercq, J. Accrombessi, G. C. (2012). Chemical variation of essential oil constituents of *Ocimum gratissimum* L. from Benin, and impact on antimicrobial properties and toxicity against *Artemia salina* Leach. *Chemistry & biodiversity*, 9(1), 139-150.

Lemos, D. R. H., de Castro Melo, E., Rocha, R. P., de Almeida Barbosa, L. C., & Pinheiro, A. L. (2012). Influence of drying air temperature on the chemical composition of the essential oil of melaleuca/influência da temperatura do ar de secagem sobre a composição química do óleo essencial de melaleuca. *Revista Engenharia na Agricultura*, 20(1), 5.

Martinazzo, A. P., MELO, E. D. C., DEMUNER, A. J., & BERBERT, P. A. (2013). Avaliação do óleo essencial folhas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf após o processo de secagem. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 12(5), 523-536.

Martins, E. (1998). Estudos em *Ocimum selloi* Benth: isoenzimas, morfologia e óleo essencial. *Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica. São Paulo: UNESP*, 217, 97-126.

Martins, J. J. A., Marques, J. I., da Costa Santos, D., & Rocha, A. P. T. (2014). Modelagem matemática da secagem de cascas de mulungu. *Bioscience Journal*, 30(6).

Mclaughlin, J. L., Rogers, L. L., & Anderson, J. E. (1998). The use of biological assays to evaluate botanicals. *Drug information journal*, 32(2), 513-524.

McRae, W., Hudson, J., & Towers, F. (1988). Studies on the pharmacological activity of Amazonian Euphorbiaceas. *J Ethnopharmacol*, 22, 143-172.

Melo, J. C., Pereira, E. D., Oliveira, K. P., Costa, C. H., & Feitosa, R. M. (2015). Estudo da cinética de secagem da pimenta de cheiro em diferentes temperaturas Study smell pepper drying kinetics in different temperature. *Revista Verde (Pombal-PB-Brasil)* v, 10(2), 09-14.

Meyer, S., House, W., & Welch, R. (1982). Some metabolic interrelationships between toxic levels of cadmium and nontoxic levels of selenium fed to rats. *The Journal of nutrition*, 112(5), 954-961.

Modarresi, M., Farahpour, M.-R., & Baradaran, B. (2019). Topical application of *Mentha piperita* essential oil accelerates wound healing in infected mice model. *Inflammopharmacology*, 27(3), 531-537.

Moreira, M., Ponce, A., Del Valle, C., & Roura, S. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT-Food Science and Technology*, 38(5), 565-570.

Ozdemir, Y., Yavas, H., & Ozyurt, U. (2018). Olive semidrying process: oleuropein degradation in relation to sensory bitterness. *J Food Sci Nutr*. 2018; 1 (2): 1-8. *J Food Sci Nutr 2018 Volume 1 Issue, 2*, 5-6.

Reed, L. J., & Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American journal of epidemiology*, 27(3), 493-497.

Silva, S. O., de Carvalho, J. M., Pereira, E. C., Melo, L. M. d. C. L., & dos Santos Araújo, R. (2018). Atividade antimicrobiana e caracterização físico-química de urucum (bixa orellana L.) Em diferentes estádios de maturação. *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, 20(1), 49-57.

Silva, R. B., Almeida, C. R., Chavasco, J. M., & Chavasco, J. K. (2010). Antimycobacterial activity evaluation and MIC determination of liophilized hydroalcoholic extracts of Bixa orellana L., Bixaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(2), 171-174.

Sousa, K. A. d., Resende, O., Chaves, T. H., & Costa, L. M. (2011). Cinética de secagem do nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L.). *Revista Ciência Agronômica*, 42(4), 883-892.

Sousa, V. B. R. (2018). Efeito antimicrobiano e fenólicos totais de extratos aquosos de erva cidreira (*Lippia alba*), capim limão (*Cymbopogon citratus*) e eucalipto (*Eucalyptus globulus*).

Vilar, D. D. A. (2015). Estudo fitoquímico da bixina e fração oleosa extraídos da bixa orellana biomonitorado pela atividade leishmanicida.

Zani, C., Chaves, P., Queiroz, R., De Oliveira, A., Cardoso, J., Anjos, A., & Grandi, T. (1995). Brine shrimp lethality assay as a prescreening system for anti-Trypanosoma cruzi activity. *Phytomedicine*, 2(1), 47-50.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Everton Holanda Sales – 10%
Paulo Victor Serra Rosa – 10%
Nilton Silva Costa Mafra – 10%
Liane Batista da Cruz Soares – 6%
Ricardo Victor Seguins Duarte – 6%
Andressa Almeida Santana Dias – 6%
Andressa Teixeira Costa – 6%
Lizandra Kelly Serra Nunes – 6%
Thayane Lopes de Sousa – 10%
Maria Giulia Alvez Carneiro Felizardo – 10%
João Pedro Mesquita Oliveira – 10%
Gustavo Oliveira Everton – 10%