

Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza

Etec Prof. Dr. José Dagnoni

Química

**SANITIZANTE NATURAL À BASE DE TANINO E ÓLEOS ESSENCIAIS DE
CRAVO-DA-ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*) E DA CASCA DO LIMÃO TAITI
(*Citrus latifolia*)**

Ana Beatriz Santos de Oliveira¹

Lauren Nazato²

Lucas Sanches Miranda³

Rebeca Granzotti Mossini⁴

Thais Caroline Fernandes Lima⁵

RESUMO: Os sanitizantes sintéticos são compostos que tem como principal função reduzir o crescimento de microrganismos patógenos - mas não necessariamente as formas esporuladas - em alimentos, como frutas e hortaliças. Entretanto, estudos apontam que o uso desses sanitizantes podem trazer grandes problemas a saúde humana e ao meio ambiente, principalmente os sanitizantes que são constituídos por cloretos, por estarem relacionados a formação de organoclorados, que são neurotoxinas e trihalometanos, como o clorofórmio, sendo potencialmente carcinogênicos nos seres vivos. Visando os efeitos causados por esses compostos químicos, o presente trabalho tem como objetivo obter um produto como alternativa para os sanitizantes sintéticos clorados, a fim de reduzir os riscos à contaminação por esses defensivos, através da produção de um sanitizante 100% natural a base de tanino, substância oriunda do metabolismo secundário das plantas. Além dos óleos essenciais (OE) de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) e limão Taiti (*Citrus latifolia*), que possuem propriedades antimicrobianas e antifúngicas, como o eugenol (C₁₀H₁₂O₂) e o limoneno (C₁₀H₁₆), respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: Sanitizante; taninos; óleos essenciais.

Etec Prof. Dr. José Dagnoni – Química integrado a.beatriz0851@gmail.com¹

Etec Prof. Dr. José Dagnoni – Química integrado laurennazato@gmail.com²

Etec Prof. Dr. José Dagnoni – Química integrado lisanches80@gmail.com³

Etec Prof. Dr. José Dagnoni – Química integrado becamossini@gmail.com⁴

Etec Prof. Dr. José Dagnoni – Química integrado thais.carol080@gmail.com⁵

1 INTRODUÇÃO

A sanitização de alimentos, como frutas e hortaliças, é um processo utilizado para reduzir ou destruir o número de microrganismos patógenos, mas não necessariamente as formas esporuladas. Sua efetividade está relacionada diretamente com a colonização inicial dos microrganismos na superfície do produto (ERICKSON, 2012). Essa técnica pode ser realizada por meio de procedimentos físicos como a água quente ou químicos, como os compostos à base de cloro e peróxido de hidrogênio (Nascimento et al, 2010). Porém, os sanitizantes químicos utilizados nas indústrias de alimentos, podem desencadear resistência e adaptação bacteriana, interferindo na utilização destes defensivos (Issa-Zacharia et al, 2010).

Apesar de haver diversas formas de sanitização de alimentos, o mais utilizado são os sanitizantes a base de cloro, visto que apresentam eficiência em várias diluições, é de fácil preparo e aplicação e possui baixo valor comercial (Nascimento et al, 2010). Entretanto, podem ser desvantajosos para a saúde humana e para o meio ambiente, pois quando composto clorado se liga a matéria orgânica ele se acumula, apesar da baixa reatividade. Nos seres vivos, pode haver a formação de organoclorados, que são neurotoxinas e dos trihalometanos, como o clorofórmio, sendo potencialmente carcinogênicos (Varise, 2013), além de possuir cheiro e gosto desagradável e a capacidade de desencadear reações alérgicas (Marins et al., 2012; Teixeira et al., 2018; Böhle et al., 2022). Quando esse tipo de composto entra em contato com solo, pode ser fatal à algumas espécies de plantas e em contato com meios aquosos, como águas residuais, muitos subprodutos de desinfecção (DBPs) podem ser formados, dependendo das concentrações de matéria orgânica, inorgânicos e poluentes antropogênicos presentes (Parveen, 2022).

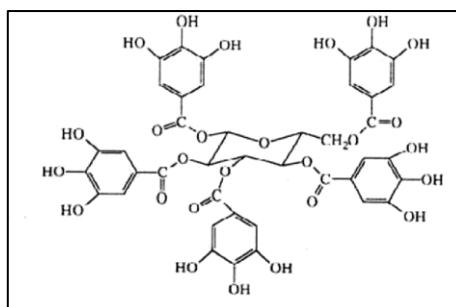
Portanto, o presente trabalho tem como objetivo reduzir os riscos à contaminação por esses defensivos através da produção de um sanitizante 100% natural à base de tanino, substância oriunda do metabolismo secundário das plantas que atua como adstringente, antioxidante, antiviral, antimicrobiano, antitumoral, antidiarreico e antisséptico (BRUNETON, 1991; ASHOK e UPADHYAYA, 2012). Além dos óleos essenciais (OE) de cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*) e limão Taiti (*Citrus latifolia*) que possuem propriedades antimicrobianas e antifúngicas, como o eugenol (C₁₀H₁₂O₂) e o limoneno (C₁₀H₁₆), respectivamente.

1.1 Tanino

De acordo com Dias et al. 2011, “Os taninos são compostos polifenólicos distribuídos em plantas, alimentos e bebidas, possuem peso molecular relativamente elevado, volúveis em água, formam complexos razoavelmente fortes com proteínas e outros polímeros”. Esta substância presente no metabolismo secundário das plantas, caracteriza a sensação de adstringência em vários produtos vegetais, por possuírem a capacidade de complexar proteínas, tal como as glicoproteínas salivares. Por conta dessa propriedade, o tanino é um agente controlador de insetos e microrganismos (CASTEJON, 2011). “Os taninos são sólidos, sem forma definida em sua maioria, solúveis em água, álcool, glicerina e polietilenoglicol e na presença de solventes orgânicos apolares, são insolúveis” (CORNÉLIO, BERNARDINO e MOCCOL, 2003; SILVA e SILVA, 2000).

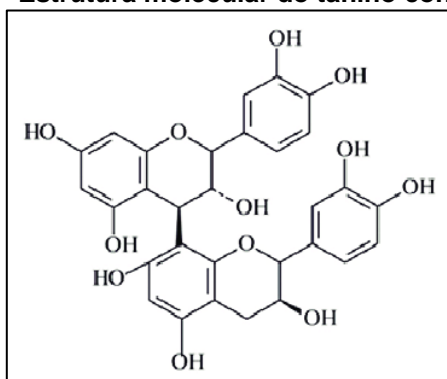
Podem ainda ser classificados em dois tipos: **Taninos hidrolisáveis** (possuem ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados, além de serem hidrolisáveis em meio ácido e básico, sendo normalmente encontrado em folhas, galhos, cascas e madeiras de algumas árvores) e os **Taninos condensados** (característico nas angiospermas e gimnospermas. São capazes de formarem complexos com macromoléculas) (SALUNKHE et al., 1990). Está associado ao sabor adstringente em vinhos e outras bebidas, no curtimento do couro e na produção de agentes flocculantes e coagulantes para tratamento de água.

Figura 1 - Estrutura molecular do tanino hidrolisável.



Fonte: NAKAMURA et al. (2003).

Figura 2 - Estrutura molecular do tanino condensado.



Fonte: Rodrigo Diniz de Souza et al, 2015.

A utilização dos taninos em medicamentos está cada vez mais em discussão, por conta de suas propriedades adstringentes, antioxidantes, antiviral, antitumoral, antidiarreico e antisséptico (BRUNETON, 1991; ASHOK e UPADHYAYA, 2012). Diversos estudos apresentam o tanino com atividade contra *Escherichia coli*, *Salmonellatyphi* e *Staphylococcus aureus* (NABI et al., 1992; ARIAS et al., 2004; VORAVUTHIKUNCHAI et al., 2004; HERNANDEZ et al., 2009). A entrada das bactérias no material vegetal pode estar relacionada as suas aberturas vegetais (estômatos, raízes laterais ou rupturas no tecido vegetal), onde ao adentrar por meio da água utilizada para irrigação, semeadura das sementes ou por enxague do material colhido, as bactérias do tipo *Salmonella* spp. e *E. coli* podem se multiplicar (COOLEY et al., 2003; DEERING et al., 2011; JABLASONNE et al., 2005; SCHIKORA et al., 2008; WARRINER et al., 2003).

Há três hipóteses para o potencial antimicrobiano do tanino: a primeira supõe que o tanino é capaz de inibir enzimas bacterianas e fúngicas ou complexá-las. A segunda diz a respeito do tanino agir sobre as membranas celulares dos microrganismos, modificando seu metabolismo. E então, a terceira se refere em sua capacidade de complexar íons metálicos que são essenciais para o metabolismo microbiano (SCALBERT, 1991).

Os compostos polifenólicos estão presentes na casca de diversas frutas e plantas. A erva cidreira ou melissa, pertence à família labiatae e possui componentes fitoquímicos, como polifenóis, terpenos, tanino e flavonoides (COSTA, 2007). Já a banana-prata (*Musa sapientum*), durante seu estágio de maturação não é consumida devido sua dureza e à adstringência, pois nesse estágio, o teor de tanino torna-se parte da polpa (ANJOS, LIMA e GOUVEA, 2017)

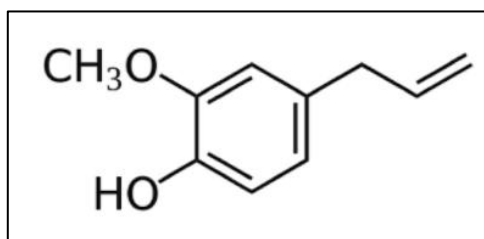
1.2 Cravo-da-Índia

As plantas medicinais possuem grande variedade de metabólitos secundários com propriedades biológicas, como a atividade antimicrobiana presente em seus óleos essenciais, também conhecidos como óleos voláteis, os quais contribuem para o controle de doenças em plantas, sendo um controle alternativo de fungos e bactérias (Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.17, n.1, p.105-116, 2015). Além das propriedades antimicrobiana, possuem atividade antioxidante que auxilia na eliminação dos radicais livres no organismo humano (OLIVEIRA et al., 2009).

Extraído do botão floral seco do cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*), seu óleo essencial apresenta atividades antimicrobianas e antioxidantes devido à presença do eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$), que atua como quelante (substância química capaz de complexar e inibir íons metálicos) de íon férrico, resultando na prevenção da formação dos radicais hidroxila (CHAIEB et al., 2007).

O extrato aquoso de cravo-da-Índia impediu o desenvolvimento dos fitopatógenos de *Glomerellacingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides*, que estão presentes na uva e morango, respectivamente (Rozwalka et al. 2008). Algumas bactérias presentes nos alimentos em que apresenta eficácia são: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeriamonocytogenes* e *Salmonella Typhimurium* (CHAIEB et al., 2007). O óleo essencial do *Syzygium aromaticum* também é utilizado como conservante de alimentos nas indústrias (SEBAALY et al., 2015).

Figura 3: Estrutura molecular do eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$).



Fonte: <<https://www.enocultura.com.br/loja2/wp-content/uploads/2021/04/Eugenol.png>>.

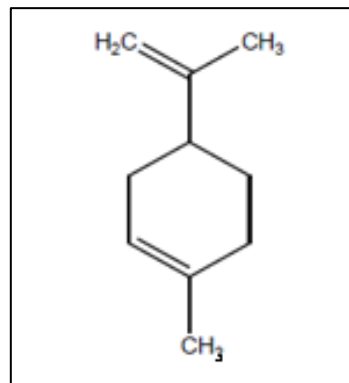
1.3 Limão Taiti

Atualmente as frutas do gênero Citrus, em destaque o limão Taiti, são as mais produzidas e consumidas pela população mundial (SANTOS, 2017), sendo os principais produtores o México, Estados Unidos, Egito, Índia, Peru e Brasil (GONÇALVES et al., 2018).

Na morfologia do limão Taiti encontra-se o flavedo, que apresenta substâncias com elevado valor comercial, como as vitaminas E, em destaque seu óleo essencial (MENDONÇA et al., 2006). Entre os terpenos, o limoneno é um monoterpene que compõe a maior parte do óleo essencial do limão Taiti (MARÓSTICA; PASTORE, 2007). Segundo Hąc-Wydro; Flasiński; Romańczuk (2017), o limoneno mesmo sendo utilizado sozinho, apresenta forte efeito antibacteriano e antifúngico, sendo sua concentração inibitória mínima (MIC) menor que 2% contra determinados microrganismos (BICAS, 2009).

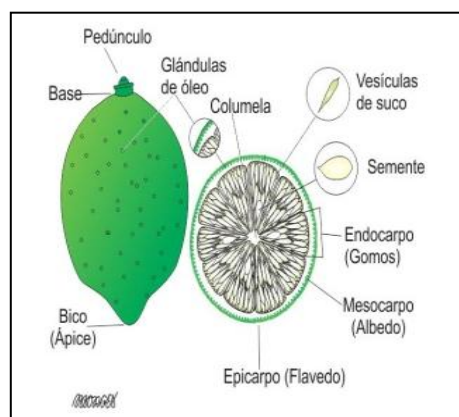
O óleo essencial do *Citrus latifolia*, segundo a literatura, é eficiente sobre as bactérias: *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis*.

Figura 4: Estrutura molecular do limoneno ($C_{10}H_{16}$).



Fonte: Acta BiomedicaBrasiliensia, 2018.

Figura 5: Morfologia do limão Taiti (*Citrus latifolia*).



Fonte: SILVA; OLIVEIRA; VASCONCELOS, 2020.

2.METODOLOGIA

Considerando o estudo de um sanitizante natural para higienização dos alimentos será utilizado em sua composição óleos essenciais do limão Taiti (*Citrus latifolia*) e do cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum*), por apresentarem atividade antimicrobiana, as quais contribuem para o controle microbiológico, além do tanino extraído por meio das amostras de banana-prata verde e erva Melissa.

2.1 Extração dos óleos essenciais

Para a extração do óleo essencial do limão Tahiti (*Citrus latifolia*) utilizou-se o sistema Clevenger. Em uma balança semi-analítica, foi pesado 147g de casca de limão cortados em pequenos pedaços. Em seguida, o substrato foi adicionado em um balão de fundo redondo com 300mL de água deionizada, até ficar totalmente submerso no solvente, sem sobrecarregar o balão. A manta de aquecimento foi ligada a 100°C e deixou a hidrodestilação acontecer, para no final separar o óleo da água.

Já o óleo essencial extraído do botão floral seco do craveiro-da-índia, foi extraído pelo sistema de destilação simples com a coluna de vigreux, conectada a um balão de fundo redondo e uma manta de aquecimento a 80°C. Foi pesado 45g de botões florais de *Syzygium aromaticum* e adicionado ao balão com 320mL de água deionizada, por um período de 1 hora. Após a hidrodestilação estar completa, os 105mL da mistura heterogênea de óleo essencial e água foi adicionada a um funil de separação para a obtenção do óleo.

2.2 Quantificação do tanino

Para a quantificação do tanino, foi realizado a análise espectrofotométrica do ácido tânico comercial a 2g/L ($C_{76}H_{52}O_{46}$) em diferentes diluições, a fim de medir a absorbância a cada comprimento de onda da região UV da solução, para em seguida, efetuar a curva de calibração e definir a absorvidade molar do tanino e assim determinar a concentração de tanino nas amostras de extração dos chás da banana-prata verde (*Musa sapientum*) e erva Melissa (*Melissa officinalis*). Para isso foi construído uma curva de calibração com cinco pontos, a partir das concentrações **2g/L, 1,66g/L, 1,33g/L, 1g/L e 0,66g/L**, nos comprimentos de onda de 320nm, 325nm e 330nm, os quais o tanino absorve mais luz.

A partir da determinação dos comprimentos de onda, as amostras de chás foram analisadas em triplicata no comprimento de onda 330nm, para posteriormente

ser calculado a concentração de tanino nas amostras através da equação de Lambert-Beer ($A=\epsilon.b.c$), sendo a média das três concentrações o valor real.

2.3 Análise microbiológica

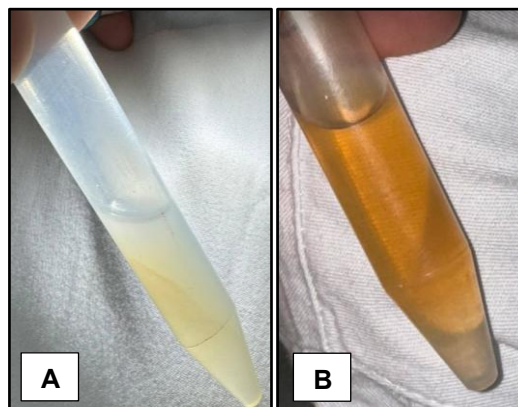
A análise da eficiência dos óleos essenciais ocorreu pela cultura microbiológica por caldo de carne, gelatina incolor e sacarose, a qual essa mistura foi incorporada e disposta em placas de petri higienizadas e desinfetadas. Para essa análise, foram adicionadas amostras de morango, tomate e morango, por apresentarem alta taxa de apodrecimento, quando úmidos e baixo pH, que favorece a proliferação de bactérias e fungos. Após o preparo das placas, foram isoladas hermeticamente e reservadas.

3. RESULTADOS

3.1 Amostra de tanino

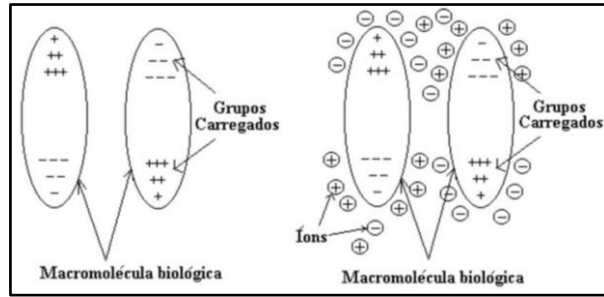
A banana-prata (*Musa sapientum*) verde e a erva Melissa (*Melissa officinalis*) são as fontes de estudo sobre o tanino por possuírem concentrações significativas desta substância. Para identificação deste composto fenólico, foi utilizado a técnica de precipitação de proteína, com gelatina incolor, que é composta por macromoléculas, em que após a adição do NaCl ocorre o efeito “salting-in”, no qual com a dissociação do sal, suas cargas interagem com as moléculas proteicas, diminuindo a interação entre elas (Heleno; 2018). Portanto, através da interação com o tanino, as proteínas se precipitam evidenciando a existência dele na amostra.

Figura 6: A) Precipitado de proteína do chá da banana. B) Precipitado de proteína do chá da erva Melissa.



Fonte: Autoral.

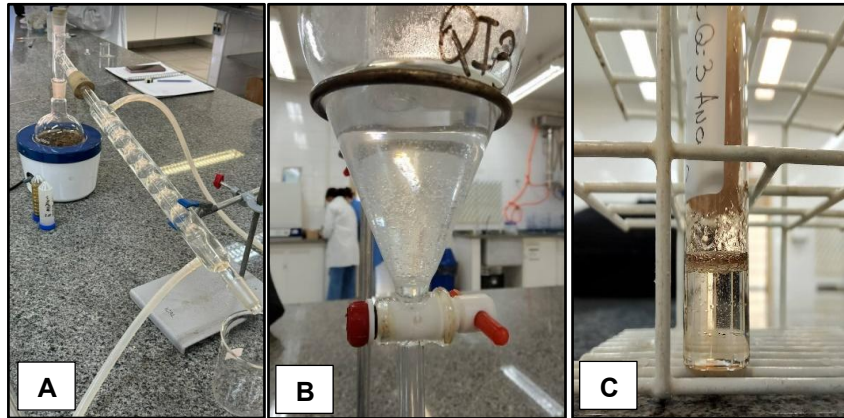
Figura 7: Efeito “salting-in”.



Fonte: HELENO, 2018

3.2 Óleos Essenciais

Figura 8: A) Extração do OE do *Syzygium aromaticum* B) Decantação do OE C) Óleo essencial.

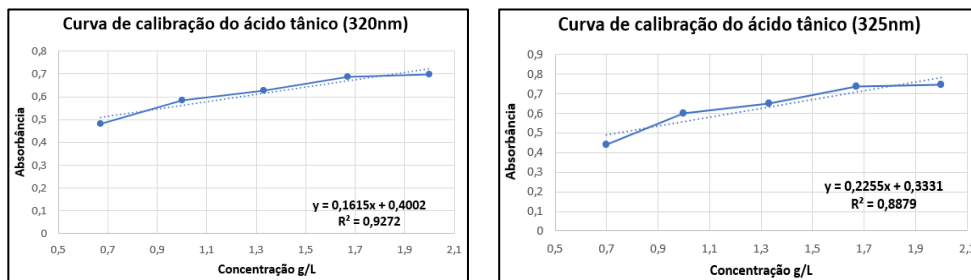


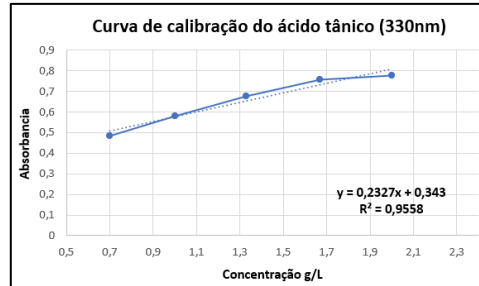
Fonte: Autoral.

Em duas etapas foi realizada a extração do óleo essencial do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), pelo método de destilação simples com a coluna vigreux. Se obteve uma mistura de 105mL de OE com água, sendo deixada em repouso por três dias em um funil de separação. Ao final, se obteve cerca de 5mL de óleo essencial de cravo-da-Índia.

3.3 Quantificação do tanino

Figura 9: Curva de calibração do ácido tânico.





Fonte: Autoral.

Através da construção da curva de calibração do ácido tânico comercial, foi determinado a absorvidade molar de cada comprimento de onda, por meio da equação da reta ($y=ax+b$). Pode-se observar que no comprimento de onda 330nm, foi obtido um R^2 mais próximo de 1, ou seja, ele se ajusta melhor ao modelo linear esperado. Logo, os dados obtidos na curva de calibração do ácido tânico no comprimento de onda 330nm, foi aplicada na equação de Lei de Lambert-Beer ($A=\epsilon.b.c$) para determinar a concentração de tanino nas amostras de chá da banana-prata verde e erva Melissa.

Figura 10: Análise espectrofotométrica para a determinação da concentração de tanino nas amostras de chá no comprimento 330nm.

Análise espectrofotométrica para a determinação da concentração de tanino				
Chá da erva Melissa	0,800A	0,801A	0,799A	$\bar{x} = 3,44g/L$
Chá da banana-prata verde	0,775A	0,775A	0,775A	$\bar{x} = 3,33g/L$

Fonte: Autoral.

3.4 Análise microbiológica

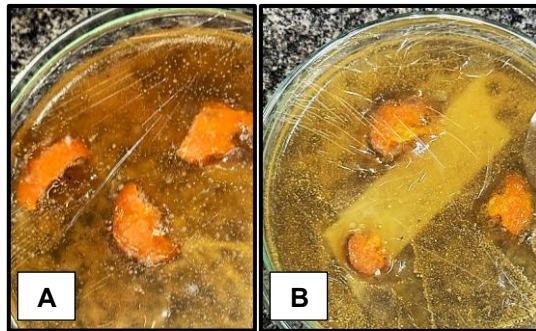
Figura 10: A) Amostra de morango em meio propício B) amostra de tomate em meio propício C) Amostra de tomate e morango em meio propício e com OE do cravo-da-Índia.



Fonte: Autoral.

Após o preparo das placas de petri, pode avistar alguns resultados dentro de três dias, os quais as placas com meio propício e sem OE, tiveram alta proliferação de microrganismos (figura 10 A, B), enquanto a cultura com OE (figura 10 C), não apresentou nenhuma formação de colônias e esporos microbiológicos a olho nu, demonstrando a eficiência do óleo essencial do cravo-da-Índia.

Figura 11: A) Amostra de cenoura apenas em meio propício B) Amostra de cenoura em meio propício com OE de limão Taiti.



Fonte: Autoral.

Com o preparo das placas de petri para a análise microbiana do OE do limão Taiti finalizado, pode ser observado que após aproximadamente três dias houve a proliferação de microrganismos (vistos a olho nu) na placa que não continha o óleo essencial do limão (Figura 12 B). Por outro lado, as placas que continham a cenoura (Figura 12 A) com o OE do limão não demonstraram proliferação microbiana;

3.5 Sanitizante natural

Após todas as análises concluídas, foi possível o preparo do produto, contendo 50% de chá da banana-prata verde, 36,7% de chá da erva Melissa, 6,7% do OE do cravo da Índia e 6,7% do OE do limão Taiti. Este produto foi armazenado em um frasco contendo conta gotas.

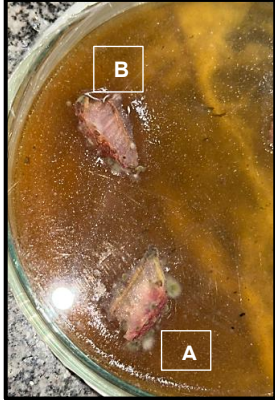
Figura 12: Frasco com conta gotas contendo o sanitizante natural.



Fonte: Autoral.

Para a análise da eficiência do sanitizante natural, houve o preparo de culturas microbiológicas com tomate, morango e cenoura.

Figura 13: A) Cultivo microbiológico do morango em meio propício e sem sanitizante B) morango em meio propício e com sanitizante.



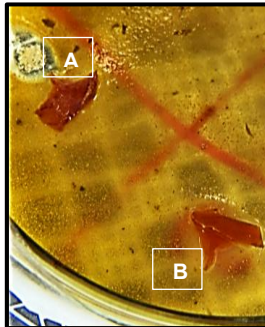
Fonte: Autoral.

Figura 14: A) Cultivo microbiológico da cenoura em meio propício e sem sanitizante; B) cenoura em meio propício e com sanitizante.



Fonte: Autoral.

Figura 15: A) Cultivo microbiológico do tomate em meio propício e sem sanitizante B) tomate em meio propício e com sanitizante.



Fonte: Autoral.

4. CONCLUSÃO

A priori, utilizando-se três gotas do sanitizante natural concentrado, foi perceptível os resultados preliminares do produto final, que demonstrou eficiência ao reduzir e/ou eliminar os microorganismos (visivelmente) comparado as amostras que não possuíam o sanitizante natural. Sendo assim, o objetivo do projeto foi atingido ao evidenciar que é possível a produção de um sanitizante 100% natural com os extratos utilizados e com as mesmas propriedades de um sanitizante sintético clorado. Ademais, para testes futuros, seria de grande interesse estabelecer diluição mínima em que apresenta eficiência, de modo que se assemelhe cada vez mais com os sanitizantes oferecidos no mercado.

REFERÊNCIAS

- ANJOS, Lívia Maia Figueiredo dos; GOUVEA, Ligiane Rios; LIMA, Meiriane Cristina Faria Soares. Determinação de fenóis totais em casca de banana prata, Minas Gerais, 2017.
- CASTEJON, Fernanda Vieira. TANINOS E SAPONINAS, Goiânia, 2011.
- COSTA, C. T. C. et al. Taninos e sua utilização em pequenos ruminantes. 2008.
- DE MELO SILVA, Ana Luiza et al. Métodos alternativos e promissores ao uso de hipoclorito de sódio na desinfecção de frutas e hortaliças minimamente processadas: Alternative and promising methods for using sodium hypochlorite in the disinfection of minimally processed fruits and vegetables. **BRAZILIAN JOURNAL OF AGRICULTURAL AND ENVIRONMENTAL SCIENCES**, v. 1, n. 1, 2023.
- DE SOUSA, Adalberto Hipólito et al. Produção de biomassa na parte aérea da erva cidreira (*Melissa ssp.*) em função de doses de esterco bovino, húmus de minhoca, composto orgânico e NPK em casa de vegetação. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, v. 3, n. 2, p. 0, 2003.
- DOS REIS GASPARETTO, Bruna. Utilização de óleo essencial de limão Taiti ("*Citrus latifolia*" e; Tanaka) integral e fracionado como conservante natural em pães de forma. 2022. Tese de Doutorado. [sn].
- EVERTON, Gustavo Oliveira et al. EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E PONTENCIAL ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE LIMÃO TAHITI (*Citrus latifolia* Tanaka). **Periódico Tchê Química**, v. 15, n. 30, 2018.
- KLUG, Tammila Venzke. Uso de extratos de taninos como sanitizantes em alface minimamente processada. 2015.
- MAIA, Tatiana Faria; DONATO, Alexandre de; FRAGA, Marcelo Elias. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 1, p. 105-116, 2015.
- DOS REIS GASPARETTO, Bruna. **Utilização de óleo essencial de limão Taiti ("*Citrus latifolia*" e; Tanaka) integral e fracionado como conservante natural em pães de forma**. 2022. Tese de Doutorado. [sn].
- NASCIMENTO, Henry Mendes; DELGADO, DA BARBARIC; BARBARIC, Ivana Filomena. Avaliação da aplicação de agentes sanitizantes como controladores do crescimento microbiano na indústria alimentícia. *Revista Ceciliana*, v. 2, n. 1, p. 11-13, 2010.
- RADÜNZ, Marjana. **Óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*, L.): extração, encapsulação, potencial antimicrobiano e antioxidante**. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas.
- SARRICO, Leonardo Damas et al. Um estudo do uso de chás da hortelã (*Mentha x Villosa* Huds), folha de Maracujá (*Passiflora Edulis*), Camomila-vulgar (*Matricaria Chamomilla* L.) E de Erva-cidreira (*Melissa Officinalis*) no auxílio ao tratamento e prevenção à ansiedade: uma revisão bibliográfica: A study of the use of mint (*Mentha x Villosa* Huds), passionfruit leaf (*Passiflora Edulis*), Chamomile (*Matricaria Chamomilla* L.) and Lemon balm (*Melissa Officinalis*) teas in the treatment and prevention of anxiety: a bibliographic review. *Brazilian Journal of Development*, v. 8, n. 9, p. 61985-62005, 2022.
- SOUZA, Patrick et al. AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL DE CHIP´S DE BANANA VERDE (*Musa spp.*). 2019.
- UCELLA FILHO, João Gilberto Meza et al. Avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante dos taninos das cascas de espécies arbóreas. 2021.