

**AValiação DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *IN VITRO* DOS ÓLEOS ESSENCIAIS
Zingiber officinale, *Syzygium aromaticum* E *Bixa orellana* SOBRE *Staphylococcus aureus***

ALEXANDRE CRISTIANO SANTOS JÚNIOR¹, ALESSANDRA PEREIRA SANT'ANNA
SALIMENA², NAYANE APARECIDA ARAÚJO DIAS³ ROBERTA HILSDORF PICCOLI⁴,

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Zingiber officinale* (gengibre), *Syzygium aromaticum* (cravo da Índia) e *Bixa orellana* (urucum), sobre *Staphylococcus aureus*. A metodologia para análise da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais foi a de Difusão em Disco, através da determinação da Concentração Mínima Inibitória (MICs) pela formação de halos inibitórios. As análises foram realizadas em triplicata e estatística dos dados com auxílio do programa SISVAR. O óleo essencial de cravo foi o que obteve melhor resposta antimicrobiana, ou seja, formação de halos inibitórios em menores concentrações utilizadas, dentre os três óleos testados, com MIC de 0,78%, seguido do óleo de urucum que apresentou MIC de 12,50%, por fim o óleo de gengibre não foi efetivo contra o *Staphylococcus aureus* por não apresentar formação de halos inibitórios em nenhuma das concentrações utilizadas. Dessa forma, os óleos essenciais são antimicrobianos promissores no combate aos microrganismos patogênicos e deterioradores.

Palavras-chaves: Óleos essenciais, Antimicrobianos, Halos Inibitórios

INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais (OEs) são misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas de origem vegetal, obtidos por processos físicos (Simões & Spitzer, 2004). Diversos estudos têm demonstrado que os óleos essenciais das mais diversas plantas, apresentam atividade antimicrobiana frente a vários microrganismos patógenos e deterioradores (Pereira et. al., 2008; Gutierrez et. al., 2008).

O *Staphylococcus aureus*, é um microrganismo gram-positivo, mesófilo que tem como habitat natural várias regiões do organismo humano e de outros animais. É um dos principais microrganismos envolvidos em contaminação de alimentos, levando a ocorrência de surtos de toxinfecções alimentares na população (Silva et. al., 2007).

Dessa forma, este trabalho teve como objetivo verificar a atividade antimicrobiana através da formação de halos inibitórios e determinação da concentração mínima inibitória (MIC) dos óleos essenciais de *Zingiber officinale* (gengibre), *Syzygium aromaticum* (cravo da Índia) e *Bixa orellana* (urucum), sobre *Staphylococcus aureus*.

¹ Mestrando em Ciência dos Alimentos, DCA/ UFLA, junincsj@yahoo.com.br

² Mestranda em Microbiologia Agrícola, DBI/UFLA, alessandrasalimena@yahoo.com.br

³ ²Mestranda em Microbiologia Agrícola, DBI/UFLA, nayaneadias@yahoo.com.br

⁴ Professora Adjunto, DCA/UFLA, rhpicoli@ufla.br

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido no Laboratório de Química Orgânica do Departamento de Química e no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras. A bactéria utilizada neste estudo foi *S. aureus* ATCC 25923. Os OEs de cravo da Índia e gengibre foram adquiridos da empresa FERQUIMA, já o de urucum foi obtido pela técnica de hidrodestilação das sementes, utilizando destilador de Clevenger modificado. A metodologia para análise da atividade antimicrobiana dos OEs foi a de Difusão em Disco (NCCLS, 2000). A cepa de *S. aureus* foi reativada em meio TSB (Tryptic Soy Broth) e cultivada até atingir a concentração de 10^8 UFC/mL sendo monitorada por espectrometria a 600 nm e contagem direta em placas. Ágar TSA (Tryptic Soy Agar) contaminado com a concentração de 10^8 UFC/mL, foi depositado em placas de Petri estéreis, e após a solidificação discos de papel estéreis com 6 mm de diâmetro foram posicionados sobre o meio. Os OEs de *Zingiber officinale* (gengibre), *S. aromaticum* (cravo da Índia) e *B. orellana* (urucum) foram diluídos em etanol nas concentrações de 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; 1,56; 0,78; 0,39%, e 5 µl de cada concentração foi depositado sobre os discos de papel. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas, e em seguida foi aferido o diâmetro (mm) dos halos inibitórios formados, sendo possível indicar a suscetibilidade do *S. aureus* aos OEs testados e determinação do MICs.

As análises foram realizadas em triplicata e a estatística dos dados utilizando o programa SISVAR (Ferreira, 2000). Análise de variância das médias das concentrações dos diferentes óleos foi realizada e submetida ao teste comparativo, Tukey (0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O diâmetro médio dos halos inibitórios dos três óleos testados está apresentado na Tabela 1. A formação de halos inibitórios sobre o *S. aureus* foi observado em dois dos três óleos testados.

TABELA 1 Diâmetro médio dos halos de inibição, formados em função das diferentes concentrações de OEs de *Z. officinale* (gengibre), *S. aromaticum* (cravo da Índia) e *B. orellana* (urucum) sobre *S. aureus*.

Concentrações % (v/v)	Óleo Essencial		
	Gengibre	Cravo da Índia	Urucum
0,39	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a
0,78	0,00 ± 0,00 ^a	8,66 ± 0,57 ^b	0,00 ± 0,00 ^a
1,56	0,00 ± 0,00 ^a	9,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^a
3,12	0,00 ± 0,00 ^a	10,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^a
6,25	0,00 ± 0,00 ^a	10,66 ± 1,15 ^b	0,00 ± 0,00 ^a
12,50	0,00 ± 0,00 ^a	12,00 ± 1,00 ^b	8,00 ± 0,00 ^c
25,00	0,00 ± 0,00 ^a	14,33 ± 0,57 ^b	8,66 ± 0,57 ^c
50,00	0,00 ± 0,00 ^a	15,33 ± 0,57 ^b	9,66 ± 0,57 ^c

*Resultados expressos pela média dos diâmetros dos halos de inibição em milímetros (mm) ± o desvio padrão. Médias seguidas de diferentes letras na mesma linha diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

O óleo essencial de Cravo da Índia foi o que obteve melhor resposta antimicrobiana, ou seja, formação de halos inibitórios dentre os três óleos testados, com MIC de 0,78%, seguido do óleo de urucum que apresentou atividade antimicrobiana intermediária com MIC de 12,50%. O OE de gengibre não foi efetivo contra o *S. aureus*, pois não apresentou formação de halos inibitórios em nenhuma das concentrações utilizadas.

Devido ao grande número de componentes, os óleos essenciais parecem não ter objetivos específicos na célula microbiana (Carson et al., 2002). Como lipofílicos típicos, passam através da

parede celular e da membrana citoplasmática, desestabilizando estruturas como camadas de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolipídios, tornando esta membrana mais permeável. Em bactérias, esta permeabilização das membranas está associada com perda de íons e à redução do potencial de membrana, levando a um colapso da bomba de prótons e depleção do pool de ATP (Ultee et al., 2000, 2002; Di Pasqua et al., 2006; Turina et al., 2006). Estes danos à parede celular e na membrana podem levar ao vazamento de macromoléculas e à lise celular (Cox et al., 2000, Lambert et al., 2001; Oussalah et al. , 2006). Além disso, os óleos essenciais podem induzir a coagulação do citoplasma e provocarem danos aos lipídios e proteínas intracelulares (Ultee et al., 2002; Burt, 2004).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram que houve uma atividade antimicrobiana de dois óleos essenciais testados sobre *Staphylococcus aureus*. O óleo essencial de cravo da Índia foi o mais efetivo na inibição desta bactéria, seguido pelo urucum e o de gengibre, sendo que o último não foi efetivo. Dessa forma, os óleos essenciais de cravo da Índia e urucum são antimicrobianos promissores no combate aos microrganismos patogênicos e deterioradores.

AGRADECIMENTOS

Aos financiadores do projeto: CAPES, FAPEMIG e CNPq

REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. **Int. J. Food Microbiol.** 94, 223–253. 2004.

CARSON, C.F., MEE, B.J., RILEY, T.V. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electronmicroscopy. **Antimicrob. Agents Chemother.** 46, 1914–1920. 2002.

COX, S. D.; MANN, C. M.; MARHAM, J. L. The mode of antibacterial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **J Appl Microbiol** 170-175. 2000.

DI PASQUA, R., HOSKINS, N., BETTS, G., MAURIELLO, G. Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. **J. Agric. Food Chem.** 54, 2745– 2749. 2006.

FERREIRA, D. F. SISVAR. Lavras: UFLA, 2000.

GUTIERREZ, J.; BARRY-RYAN, C.; BOURKE, P. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. **International Journal of Food Microbiology** v.124, p.91-97, 2008.

LAMBERT, R. J.; SKANDAMIS, P. N.; COOTE, P. J.; NYCHAS, G. J. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. **J Appl Microbiol** 91: 453-462. 2001

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards), 2000.

OUSSALAH, M., CAILLET, S., LACROIX, M. 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*. **J. Food Prot.** 69, 1046–1055.2006.

PEREIRA, A. A.; CARDOSO, M. G.; ABREU, L. R.; MORAIS, A. R.; GUIMARÃES, L. G., SALGADO, A. P. S. P. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciência e Agrotecnologia.**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 887-893, maio/jun., 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A; SILVEIRA, N.F.A.; TANIWAKI, M.H.; SANTOS, R.F.S; GOMES, R.A.R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**, 3 ed., São Paulo, Varela, 2007. 552p.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2004. p. 467-495.

TURINA, A.V., NOLAN, M.V., ZYGADLO, J.A., PERILLO, M.A Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. **Biophys. Chem.**122, 101–113. . 2006.

ULTEE, A., KETS, E.P., ALBERDA, M., HOEKSTRA, F.A., SMID, E.J. Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. **Arch. Microbiol.** 174, 233–238. 2000.

ULTEE, A., BENNIK, M.H., MOEZELAAR, R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. **Appl. Environ.Microbiol.** 68, 1561–1568. 2002.