

POTENCIAL ANTIBACTERIANO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Citrus limonum* E *Origanum vulgare* FRENTE ÀS CEPAS BACTERIANAS DA FAMÍLIA ENTEROBACTERIACEAE

KAMILA FURTADO DA CUNHA¹; LISIANE MARTINS VOLCÃO²; SUZANE OLACHEA ALLEND²; CRISTIANE DA SILVA MEYER²; GLADIS AVER RIBEIRO³

¹ Universidade Federal de Pelotas, kamilafurtado1@hotmail.com

² Universidade Federal de Rio Grande, lisivolcao@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas, suzaneolachea@yahoo.com.br

² Universidade Federal de Pelotas, crismeyersls@hotmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas, gladisaver@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

As bactérias Gram- negativas pertencentes à família Enterobacteriaceae são encontradas abundantemente na natureza, como no solo, na água, em plantas e na microbiota do trato intestinal de animais e seres humanos. São comumente associadas a processos patogênicos como síndromes diarréicas e disentéricas, septicemias, e em casos mais graves choque endotóxico devido à endotoxinas presentes na parede celular (KONEMAN et al. 2001)

Desde a antiguidade, especiarias e temperos vêm sendo utilizados para conservar alimentos, aumentando seu tempo de vida útil, são usados para fins medicinais, para disfarçar maus odores em alimentos dando-lhes sabor agradável, entre outras utilidades. A partir dos vegetais, é possível extrair, de qualquer parte da planta, o óleo essencial, que é um produto com propriedades biológicas e químicas diferenciadas, sendo uma delas a atividade antimicrobiana (STEURER, 2008).

A atividade bacteriana pode ser inibida (ação bacteriostática) ou ser letal ao micro-organismo (ação bactericida) frente às diversas concentrações de óleos essenciais, tendo um resultado semelhante aos antibióticos, porém apresentando a vantagem de serem de origem orgânica e não química como os antibióticos e conservantes industrializados. Atualmente, cada vez mais é crescente o aumento na procura por alimentos que não contenham produtos químicos e que sejam mais saudáveis. A maior parte da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais parece estar associada com compostos fenólicos. O efeito está relacionado, principalmente, à alteração da permeabilidade e integridade da membrana celular bacteriana (STEURER, 2008).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial bactericida e bacteriostático dos óleos essenciais *Citrus limonum* (limão) e *Origanum vulgare* (orégano) frente a algumas cepas bacterianas pertencentes à família Enterobacteriaceae, comumente associadas a processos patogênicos.

2. METODOLOGIA

Os óleos essenciais de *Citrus limonum* e *Origanum vulgare* e as cepas bacterianas utilizadas para realização desse trabalho pertenciam à bacterioteca do Laboratório de Bacteriologia do departamento de Microbiologia e Parasitologia,

do Instituto de Biologia, da Universidade Federal de Pelotas, dentre as quais foram utilizadas *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Proteus* spp. e *Enterobacter aerogenes*.

Para a avaliação antimicrobiana dos óleos essenciais de limão e orégano foi utilizada a Técnica de Microdiluição em caldo de acordo com o NCCLS (M7-A6) (NCCLS, 2003), onde foi determinada a Concentração Mínima Inibitória (CMI), ou seja, a menor concentração dos óleos que inibi o crescimento bacteriano. O meio utilizado foi o caldo Brain Heart Infusion -BHI- (Acumedia®), acrescido do emulsificante Tween 80 (T80-Vetec®) a 0,5%, onde foram feitas 7 diluições decimais de base dois (10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,62%, 0,31% e 0,15%) dos óleos essenciais no meio de cultura. Os inóculos foram preparados a partir da suspensão bacteriana feita em solução fisiológica até alcançarem a escala de 0,5 de MacFarland e em seguida foram feitas diluições (1:10) em caldo BHI, obtendo assim os inóculos bacterianos. A partir desse, foi adicionado 20µl em cada cavidade, nas diferentes concentrações dos óleos já contendo meio (BHI) e emulsificante (Tween80), visando obter população bacteriana de aproximadamente $1,5 \times 10^5$ UFC.

Os testes foram realizados em triplicata, onde foram feitos ainda um controle negativo (meio+óleo+ Tween80) e um controle positivo de crescimento bacteriano (meio+Tween80+inóculo). As placas foram encubadas a 36°C durante 24h. Para a leitura do teste, após a incubação, foram adicionados 20µl da solução Cloreto de Trifenil Tetrazólio com concentração de 0,5%, feita em água destilada estéril em todas as cavidades da placa, até mesmo nos controles, onde após 20 minutos incubados a 36°C indicou possível atividade bacteriana pela mudança de cor do meio.

Para obter a Concentração Bactericida Mínima (CBM) foram utilizados os resultados da CIM. Foi coletado uma alíquota de 5 µl de todas cavidades em que houve inibição do crescimento bacteriano e semeados pela técnica de zingue - zague em placas contendo ágar BHI e depois incubadas à 36°C durante 24h. Após o período de incubação, foi possível identificar quais cepas sofreram ação bacteriostática pelos óleos testados e quais das mesmas sofreram ação bactericida.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta os resultados da CIM e da CBM dos óleos essenciais de orégano e limão para as quatro cepas testadas. Todas as amostras bacterianas testadas mostraram sensibilidade ao óleo essencial de orégano, apresentando resultados com ações bactericidas ou bacteriostáticas, exceto nas menores concentrações do óleo (0,32 % e 0,15 %). Em relação ao óleo essencial de limão, apenas *Shigella* spp., mostrou-se inibida pelo principio ativo, porém o mesmo não apresentou ação bactericida ou bacteriostática frente as demais bactérias testadas. Essa bactéria demonstrou maior sensibilidade em ambos os óleos essenciais testados, sofrendo ação bactericida na maior concentração do óleo de orégano e menor concentração inibitória dentre as quatro cepas bacterianas testadas.

Segundo as observações de Kim et al. (1995) as bactérias Gram- negativas geralmente apresentam um comportamento de maior resistência quando comparada às bactérias Gram-positivas devido à complexidade da estrutura da sua parede celular (ARAÚJO, 2004), o que dificultaria a ação dos óleos essenciais. Para Porte e Godoy (2001) é necessário determinar a composição química do óleo essencial para aproveitar suas potencialidades e aplicá-las

(HENTZ, 2007). No trabalho desenvolvido por Santurio et al. (2007), foi observado maior inibição bacteriana pelo óleo essencial de orégano e nenhuma atividade antibacteriana pelo óleo essencial de limão, o que condiz com os resultados obtidos nesse trabalho.

Tabela 1- Valores da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Bactericida Mínima (CBM) de óleos essenciais de *Origanum vulgare* e *Citrus limonum* sobre cepas bacterianas.

Óleo Essencial	Cepa	CIM	CBM
<i>Origanum vulgare</i>	<i>Proteus spp.</i>	1,25%	5%
	<i>Shigella spp.</i>	0,62%	5%
	<i>Salmonella spp.</i>	1,25%	10%
	<i>E. aerogenes</i>	1,25%	10%
<i>Citrus limonum</i>	<i>Proteus spp.</i>	X	Y
	<i>Shigella spp.</i>	10%	Y
	<i>Salmonella spp.</i>	X	Y
	<i>E. aerogenes</i>	X	Y

Nota: X- ausência de ação bacteriostática; Y- ausência de ação bactericida.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, observou-se um maior potencial antibacteriano do óleo essencial de *Origanum vulgare* frente às cepas testadas, onde *Shigella* spp. mostrou-se mais sensível aos óleos de *Origanum vulgare* e *Citrus limonum*. Entretanto, considera-se importante a realização de outros estudos com a intenção de comprovar a eficiência antibacteriana dos óleos testados, a fim de encontrar alternativas para substituição de antibióticos e conservantes químicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO J. S. L. V.; LIMA E. O. ; CEBALLOS B. S. O. ; FREIRE K. R.L.; SOUZA E. L.; FILHO L.S.; Ação antimicrobiana de óleos essenciais sobre microorganismos potencialmente causadores de infecções oportunistas. **Revista de Patologia Tropical**. Goiás, v. 33, n. 4, p. 55-64, 2004.

HENTZ S. M.; SANTIN N.C.; Avaliação do potencial antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) contra *Salmonella* spp. . **Evidência Interdisciplinar**. Joaçaba, v. 7, n. 2, p. 93-100, 2007

KIM, J.; MARSHALL, M.R.; WEI C. Antibacterial activity of some essential oil

components against five foodborne pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, n. 11, p. 2839-2845, 1995.

KONEMAN, E. W. Diagnóstico Microbiológico Texto e Atlas Colorido. Rio de Janeiro: Medsi, 2001

NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved standard M7-A6, 2003.

PORTE, A.; GODOY, R. L. O. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.): Propriedade antimicrobiana e química do óleo essencial. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**. Curitiba, v. 19, n.2, p. 193-210, 2001.

SANTURIO, J.M.; SANTURIO, D.F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P. R.; ALVES, S.H.; Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente à sorovares de *Salmonella entérica* de origem avícola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 3, p. 803-808, 2007.

STEURER, F., **Especiarias: aplicações e propriedades**, 2008. Monografia (Bacharelado em Química de Alimentos), Requisito parcial da Disciplina de Seminários em Alimentos, Universidade Federal de Pelotas.