

INIBIÇÃO DE *SALMONELLA TYPHIMURIUM* POR ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO DA ÍNDIA (*SYZYGIUM AROMATICUM*, L.)

JOÃO PAULO DE PAIVA LEMOS¹, MARJANA RADÜNZ², PÂMELA INCHAUSPE CORRÊA ALVES³, CAROLINE D. BORGES⁴, ELIZABETE HELBIG⁵, ELIEZER AVILA GANDRA⁶.

¹Laboratório de Ciência dos Alimentos e Biologia Molecular (LACABIM), Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Universidade Federal de Pelotas (UFPel) –

joaopaulopaivalemos@hotmail.com

² Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA), Universidade Federal de Pelotas – marjanaradunz@gmail.com

³Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos (PPGNA), UFPel – pam.inchauspe@hotmail.com

⁴CCQFA, UFPel – caroldellin@hotmail.com

⁵ PPGNA, UFPel – helbign@gmail.com

⁶ LACABIM, CCQFA, UFPel – gandraea@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Na última década tem sido constante e crescente a busca por alternativas naturais para substituição de aditivos químicos tradicionalmente utilizados em alimentos. A utilização de substâncias naturais, de origem vegetal, pode tornar o alimento mais atrativo ao consumidor, por não apresentarem efeito tóxico, mesmo quando empregadas em concentrações relativamente elevadas, além de outros benefícios já relatados, como efeito antioxidante e antimicrobiano demonstrado por algumas substâncias extraídas de vegetais, como por exemplo os óleos essenciais (PEREIRA et al., 2006).

As especiarias oferecem uma promissora alternativa para a segurança microbiana de alimentos. A atividade inibitória de algumas especiarias e de seus produtos derivados sobre o crescimento de bactérias, leveduras, fungos filamentosos e sobre a síntese de toxinas microbianas tem sido relatada, indicando que substâncias presentes nas especiarias poderiam ser utilizadas na conservação de alimentos como agentes principais ou coadjuvantes com vistas em assegurar a produção de alimentos microbiologicamente estáveis (STAMFORD et al., 2005).

O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*, L.) é uma especiaria muito apreciada desde a antiguidade, não só por seu sabor e qualidades culinárias, mas também por suas utilizações terapêuticas. Várias aplicações desta especiaria na cultura popular têm sido relatadas na literatura bem como estudos científicos sobre esses usos (AFFONSO et al., 2012).

Esse trabalho teve como objetivo verificar o potencial antibacteriano de óleo essencial de cravo da índia (*Syzygium aromaticum*, L.) frente a bactéria *Salmonella Typhimurium*, por meio da técnica de disco difusão.

2. METODOLOGIA

2.1 Obtenção do óleo essencial

Amostras de cravo-da-índia foram moídas em moinho de facas (Marconi) e após o óleo essencial foi extraído de acordo com a Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2010), por meio do processo de hidrodestilação por arraste a vapor com o auxílio do equipamento Clevenger durante 3 h. Após a extração, o óleo essencial foi armazenado em frasco âmbar em temperatura de congelamento (-18°C).

2.2 Cultivo do microrganismo

Foi utilizado no experimento cepas padrão de *Salmonella Typhimurium* (ATCC 13311). As bactérias utilizadas no experimento foram mantidas sob congelamento em caldo BHI (Brain Heart Infusion) e glicerol (propano-1,2,3-triol) na proporção 3:1 (v:v). Para realizar a reativação, uma alçada dessas bactérias foi transferida para caldo Soja Trypticaseína (TSB) e incubadas em estufa durante 24 h a 37 °C. Após uma alçada desse crescimento foi estriada em placas de Petri com meios seletivos (Agar Entérico Hektoen (HE) e incubadas por 24 h a 37 °C, para o isolamento de colônias com morfologia característica.

A partir do crescimento bacteriano nas placas de Petri, foi extraída uma alçada carregada e ressuspensa em solução salina (NaCl 0,85%), a qual foi padronizada na concentração 0,5 na escala de McFarland (equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC mL-1).

2.3 Avaliação do potencial antibacteriano através de disco difusão

A avaliação do efeito antibacteriano do óleo essencial foi realizada por meio da técnica de disco difusão de acordo com o protocolo proposto pelo *Manual Clinical and Laboratory Standards Institute*–CLSI (2015) com pequenas modificações. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas. Uma solução salina padronizada contendo o inóculo de *Salmonella Typhimurium* foi semeada com auxílio de um swab estéril na superfície de placas com ágar Muller-Hinton. Em seguida foram adicionados discos de papel filtro esterilizados com diâmetro de 6 mm. Após, 10 µL de óleo essencial de cravo-da-índia foram impregnados sobre os discos de papel e as placas incubadas por 24 h a 37 °C. Logo após este período foi efetuada a medição dos halos de inibição. Os resultados de disco difusão foram expressos em centímetros de halo \pm desvio padrão após três medidas equidistantes dos halos formados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são expostos os resultados encontrados no teste de disco difusão.

Tabela 1 – Halos de inibição obtidos com óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*, L.) frente a bactéria *Salmonella Typhimurium*

Bactérias	Halo de inibição (cm*)
<i>Salmonella Typhimurium</i>	2,22 \pm 0,1

*Média das triplicatas

Verificou-se que o óleo essencial de cravo da índia apresentou efeito inibitório frente a bactéria *Salmonella* Typhimurium, encontrando halos de inibição conforme pode ser visualizado no tabela 1.

Pode-se considerar que o efeito inibitório foi satisfatório considerando que outros autores em pesquisas similares encontraram valores menores de halos de inibição, como por exemplo PEREIRA et al.,(2012), também utilizando o óleo essencial de cravo da índia encontraram halos variando de 0,8 a 1,2 cm frente a *Salmonella* spp e FERRONATTO et al.,(2007) trabalhando com óleo essencial de Baccharis uncinella D.C. frente a bactéria *E. coli* que encontraram halos de inibição variando de 0,8 a 1,9.

Considerando que *Salmonella* spp. é a bactéria mais envolvida em casos e surtos de doenças transmitidas por alimentos no mundo este resultado torna-se relevante na busca por substâncias naturais que possam atuar na inibição deste patógeno.

Mais estudos são ainda necessários tanto para que se possa esclarecer o mecanismo de atuação deste óleo sobre a bactéria como para viabilizar a utilização deste óleo essencial como um conservante em alimentos.

4. CONCLUSÃO

Verificou-se por meio da técnica de disco difusão que o óleo essencial de cravo da índia apresenta efeito inibitório sobre a bactéria *Salmonella* Typhimurium.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Affonso, R. S.; Rennó, M. N.; Slana, G. B. C. A.; França, T. C. C.* Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia **Rev. Virtual Quim.**, 2012, v.4, n.2, 146-161. Data de publicação na Web: 14 de maio de 2012

Brasil. **Farmacopeia Brasileira**, v.2 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 546p., 1v/il.

CLSI, 2015a. M02-A12: **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**; Approved Standard—Twelfth Edition. CLSI (Clinical Lab. Stand. Institute) 35.

Ferronatto, R.; Marchesan, E. D.; Pezenti, E.; Bednarski, F.; Onofre, S. B.; Atividade Antimicrobiana de Óleos Essenciais Produzidos por Baccharis dracunculifolia D.C. e Baccharis uncinella D.C. (Asteraceae) **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba v.17, n.2, p.224-230, 2007

Pereira, A. A.; Cardoso, M. G.; Abreu, L. R.; Morais, A. R.; Guimarães, L. G. L.; Salgado, A. N. S. P.; Caracterização Química e Efeito Inibitório de Óleos Essenciais Sobre o Crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras v.32, n.3.p. 887-893, 2008.

Pereira, M. C.; Vilela, G. R.; Costa, L. M. A. S.; Reginaldo Ferreira da Silva, R. F.; Anderson Felicori Fernandes, A. F.; Fonseca, E. W. N.; Piccoli, R. H.; Inibição do desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos Essenciais de Condimentos **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 731-738, 2006



Stamford, T. L.; Souza, e. L.; Lima E. O.; Trajano V. N.; Filho, J. M. B.; **Braz. arch. biol. Technol.** V.48 n.4 Curitiba 2005