

AVALIAÇÃO DA PROPRIEDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Rosmarinus officinalis* SOBRE BACTÉRIAS CONTAMINANTES DE ALIMENTOS

LAYLA DAMÉ MACEDO¹; SUELEN RIOS OSWALD²; LETÍCIA ZARNOTT LAGES³; MARCELLE OLIVEIRA GARCIA⁴; CLÁUDIO DIAS TIMM⁵; RITA DE CÁSSIA DOS SANTOS DA CONCEIÇÃO⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – layladame@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – suelenriososwaldt@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – leticiazarnott@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – marcelle_garcia@hotmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – claudiotimm@hotmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – ritinhaconceicao@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A busca de novos antimicrobianos a partir de espécies vegetais tem se mostrado bastante promissora nos últimos tempos, visando sanar os problemas de resistência microbiana a antibióticos atualmente utilizados (HAIDA et al., 2007). A procura por produtos naturais derivados de plantas como alternativa para a utilização em terapias tem aumentado consideravelmente (FIGUEREDO et al., 2014; GONÇALVES et al., 2013). Sendo assim, diversos estudos têm demonstrado a importância dos óleos essenciais no desenvolvimento de novos medicamentos e com isto no controle de infecções (VANIN, 2014). Assim, é primordial a realização de testes que permitam a avaliação da atividade antimicrobiana de plantas, como o alecrim, em microrganismos de importância em alimentos.

Vários microrganismos patogênicos podem estar presentes no produto final e dentre estes destacam-se *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. A contagem de *Staphylococcus* em alimentos pode ser feita com dois objetivos diferentes, um por ser uma indicação de perigo potencial à saúde pública, devido a enterotoxina estafilocócica e outro relacionado à sanificação questionável, principalmente quando o processamento envolve a manipulação de alimentos (FRANCO & LANDGRAF, 2008).

A espécie *Rosmarinus officinalis*, conhecida popularmente como alecrim, pertencente à família *Lamiaceae*, originária de países do mediterrâneo, sendo cultivada também no Brasil. Além das suas propriedades medicinais conhecidas, a atividade antimicrobiana é muito relatada. Estudos já realizados identificaram 33 compostos químicos neste óleo, sendo que os principais identificados foram α -pineno, 1,8-cineol, cânfora, verbenona e borneol, constituindo cerca de 80% do total do óleo (SANTOYO et al., 2005). Baseado no exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana *in vitro* do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) frente a isolados de *Staphylococcus* coagulase positivos e de *Salmonella* spp.

2. METODOLOGIA

2.1. Isolados Bacterianos

Foram analisados 10 isolados de *Salmonella*, obtidos de produtos de origem animal e oito isolados de *Staphylococcus* produtores da enzima coagulase, obtidos de leite, equipamentos e utensílios envolvidos na ordenha, sendo estes provenientes de cinco propriedades diferentes da região de Pelotas-RS. As amostras de produtos de origem animal foram adquiridas em

supermercados da região de Pelotas – RS, Brasil, e encaminhadas ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA), da Faculdade de Veterinária, da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) para análise. Após o isolamento de *Salmonella* e confirmação por sorologia, os isolados foram estocados em glicerol e mantidos a -18°C. No caso de *Staphylococcus*, após a realização da prova da coagulase, os isolados coagulase positivos foram também armazenados em BHI com glicerol e mantidos a -18°C.

2.2. Obtenção do Óleo Essencial

Foi utilizado o óleo de *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim), obtido comercialmente, em frasco âmbar, lacrados, com volume de 100 mL (Ferquima – Indústria e Comércio de Óleos Essenciais), sendo a destilação a vapor das folhas, o método de extração utilizado.

2.3. Método de Disco-Difusão

A suscetibilidade dos isolados ao óleo foi avaliada pelo método de disco-difusão de BAUER et al. (1966). Inicialmente, os isolados foram semeados em caldo Infusão Cérebro e Coração (BHI, Acumedia) e incubados a 37°C/24 horas. Após incubação, a densidade ótica de cada cultivo bacteriano foi padronizada com o auxílio de um espectrofotômetro, sendo esta equivalente ao padrão 0,5 da Escala de McFarland. Os isolados de *Salmonella* spp e de *Staphylococcus* produtores da enzima coagulase foram semeados com o auxílio de um swab estéril em placas contendo ágar Mueller-Hinton (Acumedia, USA). Em cada placa foi semeado 200 µL do cultivo com densidade ótica padronizada, como mencionado anteriormente. Discos de papel filtro (6 mm) foram colocados nas placas e em seguida, 5 µL do óleo essencial foram adicionados em cada disco para a difusão do mesmo no meio de cultivo. O experimento foi realizado em triplicata para cada isolado e papel filtro embebido com solução salina estéril foi utilizado como controle negativo. Após incubação por 24 horas em estufa bacteriológica a 37°C, os diâmetros dos halos de inibição foram medidos com o auxílio de um paquímetro e a atividade antibacteriana do óleo de *Rosmarinus officinalis* L. (alecrim) foi considerada quando os halos formados apresentavam diâmetro superior a 12 mm (ROTA et al., 2008).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial de alecrim não demonstrou nenhuma atividade inibitória sobre os isolados de *Staphylococcus* coagulase positivos e *Salmonella* analisados neste experimento, pois todos (100%) apresentaram um halo de inibição menor que 12 mm, segundo a classificação utilizada neste estudo (ROTA et al., 2008), como pode ser observado nas Tabelas 1 e 2. Resultados similares foram obtidos por outros pesquisadores. GUIMARÃES et al. (2017) testaram a ação antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) frente a cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e não observaram também nenhuma ação inibitória do óleo testado. Resultado este também encontrado por TRAJANO et al. (2009) frente as cepas de *Staphylococcus* e de *Salmonella* testadas.

O resultado obtido pode ser decorrente de variações na composição química do óleo essencial de alecrim utilizado. Fatores como: região de cultivo, metodologia de extração e análise, parte da planta utilizada e preparo da matéria prima (seca ou *in natura*) para a extração. Estes fatores podem auxiliar



nos resultados aqui obtidos, visto que as alterações de composição química podem modificar o teor do princípio ativo presente no óleo (RIBEIRO et al., 2012).

Tabela 1. Halos de Inibição do Óleo Essencial de *Rosmarinus officinalis* (alecrim) frente a isolados de *Salmonella* spp.

Identificação dos Isolados	Diâmetro dos Halos (mm)*
14	0
15	0
23	0
27	9
40	8,5
46	0
62	8,3
66	5,6
85	10,3
100	0

* Diâmetros dos halos representam a média da triplicata.

Tabela 2. Halos de Inibição do Óleo Essencial de *Rosmarinus officinalis* (alecrim) frente a isolados de *Staphylococcus* coagulase positivos.

Identificação dos Isolados	Diâmetro dos Halos (mm)*
1207	8
1214	7,6
1237	8
1246	8,6
1268	8,6
1342	8,3
1378	8,6
1380	9,6

* Diâmetros dos halos representam a média da triplicata.

4. CONCLUSÕES

Os dados obtidos permitem concluir que o óleo de alecrim utilizado neste experimento não apresentou atividade inibitória frente aos isolados de *Staphylococcus* coagulase positivos e *Salmonella* testados. Novos estudos serão realizados para melhor investigar a ação deste óleo frente a patógenos isolados de alimentos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BAUER, A.W.; KIRBY, E.; SHERRIS, E.M.; TURK, M. Antibiotic by standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p.493-496, 1966.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FIGUEREDO, C.A.; GURGEL, I.G.D.; JUNIOR, G.G. A Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos: construção, perspectivas e desafios. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v.24, n.2, p.381-400, 2014.

GONÇALVES, N.T.; VILA, M.C.; GERENUTTI, M.; CHAVES, D.A. Políticas de saúde para a fitoterapia no Brasil. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v.18, n.4, p.632-637, 2013.

GUIMARÃES, C.C.; FERREIRA, T.C.; OLIVEIRA, R.C.F.; SIMIONI, P.U.; UGRINOVICH, L.A. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato aquoso e do óleo essencial do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) e do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus* L.) frente a cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Biociências**, v.15, n.2, p.83-89, 2017.

HAIDA, K.S.; PARZIANELLO, L.; WERNER, S.; GARCIA, D.R.; INÁCIO, C.V. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de oito espécies de plantas medicinais. **Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar**, v.11, n.3, p.185-192, 2007.

RIBEIRO, D.S.; MELO, D.B.; GUIMARÃES, A.G.; VELOZO, E.S. Avaliação do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) como modulador da resistência bacteriana. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, n.2, p.687-696, 2012.

ROTA, M.C.; HERRERA, A.; MARTÍNEZ, R.M.; SOTOMAYOR, J.A.; JORDÁN, M.J. Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. **Food Control**, v.19, p.681-686, 2008.

SANTOYO, S.; CAVERO, S.; JAIME, L.; IBAÑEZ, E.; SEÑORÁNS, F.J.; REGLERO, G. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. **Journal of Food Protection**, v.68, n.4, p.790-795, 2005.

TRAJANO, V.N.; LIMA, E.O.; SOUZA, E.L.; TRAVASSOS, A.E.R. Propriedade antibacteriana de óleos essenciais de especiarias sobre bactérias contaminantes de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.3, p.542-545, 2009.

VANIN, A.B. **Produção, propriedades biológicas, antioxidantes e toxicidade do bioaromatizante obtido via esterificação enzimática de óleo essencial do cravo-da-índia (*Caryophyllus aromaticus*)**. 2014. 139f. Tese de Doutorado (Engenharia de Alimentos) da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – UR, Erechim.