

INIBIÇÃO DE *Escherichia coli* POR ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA (*SYZYGIUM AROMATICUM*, L.)

BRUNA TIMM GONÇALVES¹; MARJANA RADÜNZ²; PÂMELA INCHAUSPE
CORRÊA ALVES³; CAROLINE DELLINGHAUSEN 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) – bruhtimm@gmail.com

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

³LACABIM Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos (PPGNA), Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – pam.inchauspe@hotmail.com

⁴CCQFA, PPGNA, UFPEL – caroldellin@hotmail.com

⁵Faculdade de Nutrição, PPGNA, UFPEL – helbignt@gmail.com

⁶LACABIM, CCQFA, PPGNA, UFPEL – gandraea@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

A indústria de alimentos tem passado por constantes pressões e um dos motivos é que os alimentos industrializados, com muitos aditivos químicos, já não são bem vistos e não são uma primeira opção para muitas pessoas. Nos Estados Unidos e na Europa existem os chamados *Clean Label* (rótulo limpo), que são produtos que não trazem em sua composição aditivos artificiais e priorizam ingredientes simples, de mais fácil compreensão, com isso percebe-se que há uma tendência mundial em substituir elementos artificiais por naturais (PORCIÚNCULA, 2017). Por esse motivo, cada vez mais aumentam estudos, que visam desenvolver alternativas naturais para a conservação de alimentos.

Dentre estas alternativas encontram-se os óleos essenciais, que nada mais são do que substâncias aromáticas produzidas pelo metabolismo secundário das plantas como forma de defesa contra ataques de patógenos. Estes óleos podem ser encontrados em várias partes das plantas como folhas, raízes, frutos e flores e são obtidos através de técnicas de extração, como o processo de hidrodestilação (ALMANATI, 2016).

Os óleos essenciais podem ser utilizados na gastronomia em função de seu aroma e sabor, sendo que quando extraídos por hidrodestilação os resultados são óleos de excelente qualidade (MEZZOMO, 2015). Os óleos essenciais são uma alternativa muito interessante para estudos, uma vez que apresentam potencial para substituir alguns aditivos químicos pelo fato de serem compostos de componentes químicos complexos (KIYOHARA e YOSHIMURA, 2014). Dentre os óleos essenciais destaca-se o óleo de cravo-da-índia (*Syzygium Aromaticum*, L.), uma planta arbórea, endêmica das Ilhas Molucas, que possui odor fortemente aromático, sabor ardente e característico (SANTOS, 2010). Embora já existam muitos trabalhos sobre seu poder frente a bactérias, ainda há uma lacuna sobre este óleo na literatura em relação ao seu potencial antimicrobiano (SILVESTRI, 2010).

A *Escherichia coli* (*E. coli*), é uma espécie de bactéria que habita normalmente a microbiota intestinal. Patótipos dessa bactéria podem ser causadores de infecções menos severas como a gastroenterite e em casos mais graves, a diarreia hemorrágica (causada por *Escherichia coli* O157:H7). Por isso a importância de que alimentos ingeridos possuam algum tipo de aditivo, seja ele químico ou não, com o poder de inibição desta bactéria (PERRIN, 2017).

O presente estudo tem o objetivo de avaliar o potencial antibacteriano do óleo essencial de cravo-da-índia frente à espécie bacteriana *Escherichia coli* O157:H7.

2. METODOLOGIA

2.1 Aquisição e extração do óleo essencial

Os botões florais secos de cravo-da-índia foram adquiridos no comércio local da cidade de Pelotas – RS. Amostras de cravo-da-índia foram moídas em moinho de facas 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 *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 43895). 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). Primeiramente foi realizada a reativação das bactérias utilizando caldo Soja Trypticaseína (TSB) e incubadas por 24 horas a 37°C, posteriormente uma alçada do crescimento microbiano foi estriada em meio seletivo para *E. coli* (ágar Eosina Azul de Metileno - EMB) e novamente incubadas por 24 horas a 37°C.

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 Clinicaland Laboratory Standards Institute* – CLSI (2005) com pequenas modificações. Todos os ensaios foram realizados em triplicatas. Uma solução salina padronizada contendo o inóculo de *Escherichia coli* 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 horas 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 ± desvio padrão após três medidas equidistantes dos halos formados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Halos de Inibição pelo Método de Disco Difusão por Aplicação de Óleo Essencial de Cravo-da-Índia (*Syzygium Aromaticum*, L.) Frente a Bactéria *Escherichia coli* O157:H7

Bactérias	Halo de inibição (cm*)
<i>Escherichia coli</i>	2,81±0,3

*Média das triplicatas

A presença e o tamanho dos halos de inibição indicam a suscetibilidade das bactérias frente ao óleo essencial, sendo considerado efeito inibitório satisfatório a presença de halos acima de 1,2 cm segundo Arora e Kaur (1999). Com base nisto pode-se observar que o óleo essencial de cravo-da-índia neste estudo possui atividade antimicrobiana satisfatória conforme resultados expressos na tabela 1.

Em estudos similares, que também utilizaram óleo essencial de cravo-da-índia frente a *E. coli*, foram encontrados como resultados halos menores do que os encontrados neste estudo, Santos (2010) obtiveram halos com média de 1,1cm e Probst (2012) verificaram halos de 1,9 cm.

Com isso percebe-se que outros trabalhos obtiveram resultados inferiores ao encontrado neste estudo, o que indica que o potencial inibitório do óleo essencial utilizado demonstrou resultados relevantes.

Mais estudos são ainda necessários, tanto para esclarecer o mecanismo de atuação deste óleo sobre a bactéria como para viabilizar a utilização deste óleo essencial como um conservante em alimentos. Porém estes resultados tem grande relevância considerando o caráter patogênico desta bactéria.

4. CONCLUSÃO

Verificou-se por meio da técnica de disco difusão que o óleo essencial de cravo-da-índia apresentou efeito inibitório sobre a bactéria *Escherichia coli* O157:H7.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARORA, D. S.; KAUR, J. Antimicrobial Activity of Spices. **Antimicrobial Agents**, Elsevier, v. 12, n. 3, p. 257 – 262, 1999

ALMANATI. **Óleos essenciais: o que são e como utilizar**. 30 set. 2016. Acessado em 10/09/2017. Disponível em: <https://almanati.com.br/2016/09/30/oleos-essenciais-o-que-sao-e-como-usa-los/>

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**, v.2, n. 5 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 546p., 1v/il.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). **Metodologia dos testes de sensibilidade antimicrobiana**. V. 23, n. 2, 6 ed. CLSI documento M07-A06. 23 fev. 2005.

KIYOHARA, E.; YOSHIMURA, B. AROMAFLOA. **Quimiotipos de óleos essenciais.** 2014. Acessado em 15/09/2017. Disponível em: <http://www.aromafloa.com.br/quimiotipos-de-oleos-essenciais/>

MEZZOMO, L. BENDITA FLORA. **O que são óleos essenciais?**. 2015. Acessado em 10/09/2017. Disponível em: <http://bendita-flora.blogspot.com.br/2015/08/o-que-sao-oleos-essenciais.html>

PERRIN, E. GENT SIDE. **Escherichia coli: na urina, tratamento, sintomas. O que é Escherichia coli?** 04 jan. 2017. Acessado em 30/09/2017. Acesso em: http://www.gentside.com.br/escherichia/escherichia-coli-na-urina-tratamento-sintomas-o-que-e-escherichia-coli_art6315.html

PORCIÚNCULA, B. Conheça os aditivos químicos usados nos alimentos e saiba os riscos do consumo em excesso. **GAUCHA ZH**, Porto Alegre, 2017.

PROBST, I. S. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico.** 2012. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada, Área de Concentração Biomoléculas – Estrutura e Função) – Curso de Biologia Geral e Aplicada, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

SANTOS, J. C. **Avaliação do efeito antimicrobiano de óleos essenciais sobre microrganismos patogênicos em vôngole.** 2010. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Curso de Pós Graduação em Ciências de Alimentos, Universidade Federal da Bahia

SILVESTRI, J. D. F., Perfil da composição química e atividades antibacteriana e antioxidante do óleo essencial cravo-da-índia. **CERES**, Viçosa, v.57, n.5, 2010.