

EFEITO ANTIMICROBIANO DO ÓLEO ESSENCIAL DE CRAVO-DA-ÍNDIA (*Syzygium aromaticum*) FRENTE Á *Listeria monocytogenes*

MARINA VIEIRA FOUCHY¹; MARJANA RADÜNZ²; PÂMELA INCHAUSPE CORRÊA ALVES³; CAROLINE D. BORGES⁴; ELIZABETE HELBIG⁵; ELIEZER ÁVILA GANDRA⁶.

¹Discente do curso de Tecnologia em Alimentos, Laboratório de Ciência dos Alimentos e Biologia Molecular (LACABIM), Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Universidade Federal de Pelotas (UFPel) – marinavieira01@gmail.com

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

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

⁴CCQFA, UFPel – caroldellin@hotmail.com

⁵PPGNA, UFPel – helbignt@gmail.com

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

1. INTRODUÇÃO

Um grande número de espécies vegetais tem sido estudado na tentativa de comprovar cientificamente suas propriedades biológicas e terapêuticas (HUSSAIN et al. 2008). Muitas destas propriedades são atribuídas aos óleos essenciais produzidos pelo metabolismo secundário dessas espécies (SARTORATTO et al. 2004; MOREIRA et al. 2005). Alguns óleos essenciais possuem na sua composição substâncias que têm a capacidade de controlar o desenvolvimento de microorganismos como, bactérias contaminantes de alimentos processados, incluindo espécies gram-positivas e gram-negativas, fungos filamentosos e leveduras (SARTORATTO et al. 2004; MOREIRA et al. 2005).

A espécie vegetal do *Syzygium aromaticum*, conhecida popularmente como Cravo da Índia, é uma árvore de 12 a 15 m de altura, que pertence à família das *Mirtaceae*. No Brasil, a planta é encontrada em regiões quentes, principalmente na região do baixo sul da Bahia. Seus botões florais contêm um óleo essencial de grande valor econômico no mercado internacional, devido ao elevado teor de eugenol (seu composto majoritário) o qual é largamente usado nas indústrias químicas e farmacêuticas (RABÉLO, 2010).

L. monocytogenes pertence ao gênero *Listeria*, que é composto por 17 espécies (GANDRA, 2015), porém, somente *L. monocytogenes* é considerada consistentemente patogênica a humanos (CRUZ et al., 2008), podendo causar listeriose. Estudos mostram a presença da bactéria em diversos alimentos, como leite e derivados, carne bovina, embutidos e vegetais (GANDRA, 2015).

A presente pesquisa objetivou determinar o potencial inibitório do óleo essencial de cravo-da-índia frente à bactéria Gram positiva *L. monocytogenes*.

2. METODOLOGIA

2.1 Extração do óleo essencial de cravo-da-índia

As amostras de botões florais secos de cravo-da-índia foram adquiridas no comércio local da cidade de Pelotas-RS e acondicionadas em sacos plásticos até sua utilização.

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 *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644). Para realizar a reativação das bactérias que encontravam-se sob congelamento em caldo BHI (*Brain Heart Infusion*) e glicerol (propano-1,2,3-triol), uma alçada dessas bactérias foi transferida para caldo Soja Trypticaseína (TSB) suplementado com extrato de levedura (0,6%) e incubadas durante 24 h a 37 °C.

Posteriormente, extraiu-se uma alçada do crescimento, a qual foi estriada em placas de Petri com meio seletivo de Ágar Oxford. As placas foram incubadas por 24 h a 37 °C, para que houvesse o isolamento das colônias.

Do crescimento bacteriano nas placas de Petri, foi retirada uma alçada e a mesma foi dispensada em solução salina (NaCl 0,85%), a qual foi padronizada na concentração 0,5 na escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC mL⁻¹). Todos os ensaios foram realizados em triplicatas.

2.3 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 *L. monocytogenes* (ATCC 7644) foi semeada com auxílio de um swab estéril na superfície de placas com ágar Muller-Hinton.

Aplicou-se 3 unidades de discos antimicrobianos na superfície das placas realizando os devidos cuidados para a não contaminação dos mesmos e posterior exatidão dos resultados. Após, 10 µL de óleo essencial de cravo-da-índia foram impregnados sobre os discos de papel. Os discos foram dispostos igualmente sobre o Ágar, formando um triângulo, sendo aplicado o óleo essencial de cravo-da-índia em 2 discos, e em 1 água destilada, para que houvesse um controle. Posteriormente, as placas foram incubadas em estufa a 37° C por 24 horas. Logo após este período, foi efetuada a medição dos halos de inibição, sendo os resultados expressos em centímetros.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Segundo ARORA e KAUR (1999) a presença e o tamanho dos halos de inibição indicam a suscetibilidade das bactérias frente a uma amostra; halos menores que 0,7 cm são considerados não ativos frente à bactéria enquanto superiores a 1,2 cm apresentam efeito inibitório satisfatório. A média dos halos verificados neste estudo foi de $2,47 \pm 0,2$ cm, ou seja, se forem seguidos os critérios acima descritos o óleo essencial de cravo-da-índia fez-se ativo na inibição do crescimento da bactéria *L. monocytogenes* apresentando efeito inibitório satisfatório.

Observou-se em outros estudos o potencial inibitório de óleo essencial de cravo-da-índia, tem se observado que os halos inibitórios obtidos são acima de

1,2 cm, como por exemplo no trabalho de Silva (2011), onde se obtiveram halos de 1,8 cm, porém, inferior ao valor adquirido na presente pesquisa.

É válido citar também, a inibição da bactéria *L. monocytogenes* frente a outros óleos essenciais, onde tem sido obtidos halos de inibição de tamanhos variados, como o caso do óleo de hortelã, obtido na mesma pesquisa citada anteriormente (Silva 2011), onde foram verificados halos de 2,6 cm, superior ao tamanho do halo obtido no presente trabalho e no estudo de Sousa et al., (2010), onde avaliaram a atividade antimicrobiana do óleo essencial das partes aéreas frescas ou secas do *Ocimum basilicum* contra diversas espécies bacterianas e observaram que o óleo essencial utilizado frente à *L. monocytogenes*, gerou um halo de inibição de 1,14 cm, bem inferior ao encontrado neste estudo.

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. CONCLUSÕES

O óleo essencial de cravo-da-índia apresentou potencial inibitório frente a *L. monocytogenes*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARORA, D.S.; KAUR, J. Antimicrobial activity of spices. **Internation. Journal of Antimicrobials Agents**, v. 12, p. 257-262, 1999.
- BRASIL. Farmacopeia Brasileira, v.2 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 546p., 1v/il.
- CLSI, 2015. M02-A12: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition. CLSI (Clinical Lab. Stand. Institute) 35.
- CRUZ, C. D.; MARTINEZ, M. B.; DESTRO, M. T.; ***Listeria monocytogenes: UM AGENTE INFECIOSO AINDA POUCO CONHECIDO NO BRASIL***. Acessado em 12 out . 2017. Disponível em: < <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/247/241>>.
- GANDRA, T. K. V. **Aspectos genéticos envolvidos na formação de biofilme por *Listeria monocytogenes* avaliados por RT- qPCR em diferentes superfícies, temperaturas e tempos de contato.** 2015. 109 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – FAEM, UFPEL.
- HUSSAIN, A.I.; ANWAR, F.; SHERAZI, S. T. H.; PRZYBYLSKI, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**. n. 108, p. 986-995. 2008.

MOREIRA, M. R.; PONCE, A. G.; del VALLE, C. E.; ROURA, S. I. Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodbourne parathogen. **LWT – Food Science and Techonology**. 2005. p. 565-570.

RABÉLO, W. F. Caracterização química, toxicidade e avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial do cravo da índia (*Syzygium aromaticum*). 2010. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 2010.

SILVA. M. G. F. Óleos essenciais e fitoconstituintes: citotoxicidade e potencial antibacteriano *in vitro* e em matriz alimentar de base láctea. 2011. Dissertacão (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Nutrição.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. N.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**. n. 35, p. 275-280, 2004.

SOUSA, M. C. et al.; Estudo comparativo da atividade bacteriana de óleo essencial das partes aéreas frescas e secas do *Ocimum basilicum* Linnaeus (Lamiaceae). **Higiene Alimentar**. São Paulo. v 24, n 182, p. 113-118, 2010.