

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEO DE GIRASSOL (*Helianthus annuus* L.)

PÂMELA INCHAUSPE CORRÊA ALVES¹; VALESKA RODRIGUES ROQUE²;
MARJANA RADÜNZ³; ELISA DOS SANTOS PEREIRA⁴; BRUNA DA FONSECA
ANTUNES⁵; ELIEZER AVILA GANDRA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – pam.inchauspe@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – lekaroque@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – marjanaradunz@gmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – lisaspereira@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – brunafonsecaantunes@gmail.com

⁶ Universidade Federal de Pelotas – gandraea@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Na última década a bioatividade de substâncias presentes em plantas e em seus extratos tem sido foco de diversos estudos e grande parte das suas propriedades biológicas tem sido atribuída aos compostos naturais oriundos do seu metabolismo primário e secundário (CALO et al., 2015). Neste contexto, os óleos vegetais representam uma das principais matérias primas extraídas das plantas e, inclusive, são comumente utilizados na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia (GARCÉS et al., 2009).

As atividades biológicas atribuídas aos óleos, tais como ação antioxidant, antifúngica e antimicrobiana são provenientes da sua composição química. Os óleos são constituídos predominantemente por ésteres de triacilglicerois, os quais, quimicamente, são produtos decorrentes da esterificação entre o glicerol e ácidos graxos (VIANNI; BRAZ-FILHO, 1995). De acordo com as suas propriedades físicas, são definidos como compostos insolúveis em água, solúveis em solventes orgânicos e líquidos em temperatura ambiente (GIOIELLE, 1996).

O girassol (*Helianthus annuus* L.), da família Asteraceae e do gênero *Helianthus*, é uma das principais espécies de sementes oleaginosas produzidas (FLAGELLA et al., 2002). O óleo de girassol é caracterizado pela alta concentração de ácido linoleico, oleico e quantidades significativas de vitamina E em sua composição (PREMNATH et al., 2016).

Diante da necessidade de descoberta de novos compostos antimicrobianos em função do aumento da resistência bacteriana aos mesmos comumente utilizados, da busca do mercado por produtos alimentícios livres de aditivos químicos e da potencialidade apresentada pelo óleo de girassol para tal finalidade, este trabalho objetiva determinar a atividade antibacteriana do óleo de girassol frente as bactérias *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*.

2. METODOLOGIA

A amostra de óleo de girassol foi adquirida no comércio da cidade de Pelotas – RS, Brasil.

Para avaliação da atividade antibacteriana foram utilizadas três cepas padrão das espécies bacterianas *Escherichia coli* (ATCC 43895), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 10832). As bactérias utilizadas no experimento eram mantidas sob congelação 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 de cada bactéria foi transferida para caldo

BHI e incubadas em estufa durante 24 h a 37 °C. Após, uma alçada desse crescimento foi estriada em placas de Petri com meios de cultura seletivos, sendo ágar Eosina Azul de Metíleno (EMB) para *E. coli*, ágar Oxford para *L. monocytogenes* e ágar Baird-Paker para *S. aureus*, e incubadas por 24 h a 37 °C para o isolamento das colônias. A partir da reativação, foi extraída uma alçada e ressuspendida 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).

A análise de disco difusão foi realizada de acordo com protocolo proposto pelo *Manual Clinical and Laboratory Standards Institute* – CLSI (2015a) com modificações. A solução salina com o inóculo foi semeada com auxílio de um swab estéril na superfície de placas com ágar Mueller-Hinton. Em seguida, foram adicionados discos de papel filtro esterilizados com diâmetro de 6 mm e 5 µL de óleo de girassol foram aplicados sobre os discos de papel. Posteriormente, as placas foram incubadas por 24 h a 37 °C. Após este período foi efetuada a medição dos halos de inibição e os resultados expressos em centímetros.

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi realizada de acordo com protocolo proposto pelo CLSI (2015b) com modificações. Foram utilizadas placas de microtitulação de 96 poços, onde foram acrescentadas em cada poço caldo BHI, inóculo bacteriano e o óleo de girassol puro e diluído nas concentrações 3,33 e 0,33 mg mL⁻¹. Logo após, as placas de microtitulação foram avaliadas em espectrofotômetro de placas (Biochrom EZ Read 400) a 620 nm, incubadas por 24 h a 37 °C e, após, realizada nova leitura em espectrofotômetro de placas. A CIM foi considerada como a menor concentração em que não houve crescimento bacteriano no meio de cultura.

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) foi realizada de acordo com o método descrito por Cabral et al. (2009) com modificações. Após a realização da CIM, foram retirados 15 µL dos poços das amostras que tiveram inibição, estriados em placas de Petri com ágar PCA (Plate Count Agar) e incubados por 24 h a 37 °C. Foi considerada a mínima concentração bactericida as placas onde não houve crescimento bacteriano. Os ensaios foram realizados em triplicata.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do teste de disco difusão, concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1. Disco difusão, concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) do óleo de girassol frente as bactérias *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Bactérias	Disco difusão (cm*)	CIM** (mg mL ⁻¹)	CBM (mg mL ⁻¹)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,83±0,04	0,33	+
<i>Escherichia coli</i>	0,89±0,09	0,33	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	0,77±0,07	0,33	-

*Média das triplicatas; **Concentração diluída com dimetilsulfóxido; Inibição de crescimento: (-); Crescimento Bacteriano: (+)

No teste de disco difusão, pode-se observar que o óleo de girassol gerou halos de inibição superiores a 0,7 cm para as bactérias *S. aureus* e *L. monocytogenes* e *E. coli*. Segundo ARORA; KAUR (1999), a presença e o

tamanho dos halos de inibição indicam a suscetibilidade das bactérias frente ao óleo, quando estes halos são inferiores a 0,7 cm são considerados não-ativos frente a bactéria, e quando apresentarem diâmetro maior que 1,2 cm são considerados de ação inibitória satisfatória. Sendo assim, o óleo de girassol avaliado neste estudo pode ser considerado com efeito inibitório satisfatório frente as bactérias testadas.

Aboki et al. (2012) avaliaram o óleo extraído das sementes de girassol que apresentou halos de inibição de 2,5 cm para *S. aureus*, diâmetro superior ao encontrado no presente estudo. SUBASHINI; RAKSHITHA (2012) verificaram a formação de halos com zona de inibição de 1,2 cm frente a *S. aureus* no extrato metanólico de sementes de girassol. Quando avaliada a inibição para *E. coli* encontraram-se halos de 0,89 cm, resultado superior ao estudo de TABASSUM; VIDYASAGAR (2014), os quais observaram halos de inibição entre 0,5 cm e 1,2 cm formados pelo óleo das sementes de girassol com diferentes solventes.

Na tabela 1 é possível visualizar os resultados encontrados nas avaliações das concentrações inibitória e bactericida mínimas. Com base no CIM, o óleo de girassol motivou a inibição do crescimento de *S. aureus*, *E. coli* e *L. monocytogenes* na concentração 0,33 mg mL⁻¹. Um óleo deve apresentar CIM de até 0,5 mg mL⁻¹ para ter uma forte ação antimicrobiana; entre 0,6 a 1,5 mg mL⁻¹ para moderada e acima de 1,6 mg mL⁻¹ para fraca. Neste estudo, de acordo com os critérios anteriormente citados, o óleo de girassol apresentou forte atividade antimicrobiana (DUARTE et al., 2016). Na CBM, o óleo de girassol expôs atividade bactericida, exceto para *S. aureus*, em que a atividade do óleo foi bacteriostática. Este resultado pode ser associado à interação dos componentes hidrofóbicos dos óleos com as membranas das células (CALO et al., 2015).

A ação antibacteriana dos óleos pode ser atribuída à sua capacidade em penetrar pelas membranas bacterianas para o interior da célula e apresentam ação inibitória sobre as suas propriedades funcionais e lipofílicas. Os mecanismos de ação referem-se à capacidade dos compostos fenólicos de modificar a permeabilidade da célula microbiana, danificando as membranas citoplasmáticas e resultar em morte celular (BAJPAI et al., 2012). Provavelmente, *S. aureus* apresentou resistência aos mecanismos de ação relacionados ao óleo de girassol.

4. CONCLUSÕES

O resultado deste estudo demonstra que o óleo de girassol da planta *Helianthus annuus* L., possui atividade antibacteriana promissora frente as bactérias Gram positivas e Gram negativa utilizadas neste estudo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOKI, M. A.; MOHAMMED, M.; MUSA, S. H.; ZURU, B. S.; ALIYU, H. M.; GERO, M.; ALIBE, I. M.; INUWA, B. Physicochemical and anti-microbial properties of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed oil. **International Journal of Science and Technology**, v.2, n.4, 2012.
- ARORA, D. S.; KAUR, J. Antimicrobial activity of spices. **International Journal of Antimicrobials Agents**, v.12, n.3, p.257-262, 1999.
- BAJPAI, V. K.; BAEK, K.; KANG, S. C. Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: A review. **Food Research International**, v.45, n.2, p.722-734, 2012.

CABRAL, I. S. R.; PRADO, A.; BEZERRA, R. M. N.; ALENCAR, S. M.; IKEGAKI, M.; ROSALEN, P. L. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v.32, n.6, p.1523-1527, 2009.

CALO, J. R.; CRANDALL, P. G.; O'BRYAN, C. A.; RICKE, S. C. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. **Food Control**, v.54, p.111-119, 2015.

DUARTE, M. C. T.; LEME, C.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G. Effects of essential oils from medicinal plants used in Brazil against epec and etec *Escherichia coli*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.8, p.139-143, 2006.

CLSI. M02-A12: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition. **CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)**, v.35, n.1, 2015a.

CLSI. M07-A10: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition. **CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute)**, v.35, n.2, 2015b.

FLAGELLA, Z.; ROTUNNO, T.; TARANTINO, E.; DI CATERINA, R.; DE CARO, A. Changes in seed yield and oil fatty acid composition of high oleic sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids in relation to the sowing date and the water regime. **European Journal of Agronomy**, v.17, n.3, p.221-230, 2002.

GARCÉS, R.; MARTÍNEZ-FORCE, E.; SALAS, J. J.; VENEGAS-CALERÓN, M. Current advances in sunflower oil and its application. **Lipid Technology**, v.21, n.4, p.79-82, 2009.

GIOIELLI, L. A. Óleos e gorduras vegetais: composição e tecnologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.5, n.2, p.211-232, 1996.

PREMNATH, A.; NARAYANA, M.; RAMAKRISHNAN, C.; KUPPUSAMY, S.; CHOCKALINGAM, V. Mapping quantitative trait loci controlling oil content, oleic acid and linoleic content in sunflower (*Helianthus annuus* L.). **Molecular Breeding**, v.36, n.106, p.1-7, 2016.

SUBASHINI, R.; RAKSHITHA, S. U. Phytochemical screening, antimicrobial activity and *in vitro* antioxidant investigation of methanolic extract of seeds from *Helianthus annuus* L. **Chemical Science Review and Letters**, v.1, n.1, p.30-34, 2012.

TABASSUM, N.; VUDYASAGAR, G. M. *In vitro* antimicrobial activity of edible oils against human pathogens causing skin infections. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v.5, n.10, p.4493-4498, 2014.

VIANNI, R.; BRAZ-FILHO, R. Ácidos graxos naturais: importância e ocorrência em alimentos. **Química Nova**, v.19, n.4, p.400, 1995.