

## **AVALIAÇÃO DO POTENCIAL SINÉRGICO ENTRE ÓLEOS ESSENCIAIS SOBRE ISOLADOS DE *Salmonella* OBTIDOS DE LINGUIÇAS FRESCAIS**

LAYLA DAMÉ MACEDO<sup>1</sup>; SOÉLEN SCHMECHEL WOLTER<sup>2</sup>; AMANDA REIS PROCÓPIO<sup>3</sup>; LETÍCIA ZARNOTT LAGES<sup>4</sup>; HELENICE DE LIMA GONZALEZ<sup>5</sup>; RITA DE CÁSSIA DOS SANTOS DA CONCEIÇÃO<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – layladame@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – wolter\_soelen@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – leticiazarnott@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas - amanda.reis.procopio@hotmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas – helenicegonzalez@hotmail.com

<sup>6</sup>Universidade Federal de Pelotas – ritinhaconceicao@hotmail.com

### **1. INTRODUÇÃO**

Óleos essenciais são líquidos oleosos aromáticos, caracterizados pelo forte odor, sintetizados nas mais diversas partes das plantas, como flores, brotos, sementes, folhas, casca do galho, frutas e raízes (BURT, 2004). São armazenados em células excretoras, células epidérmicas e tricomas glandulares, sendo formados pelo metabolismo secundário (BAKKALI et al., 2008). São constituídos por uma complexa mistura de compostos, incluindo terpenos, álcoois, cetonas, fenóis, ácidos, aldeídos e ésteres (AYALA-ZAVALA et al., 2005).

A utilização dos óleos essenciais como aromatizantes naturais tem sido muito explorada pela indústria de alimentos, porém a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e a busca por alternativas naturais para combater os microrganismos deteriorantes e patogênicos tem assumido uma papel relevante no emprego destas substâncias (ELGAYYAR et al., 2001; DORMAN & DEANS, 2000). No entanto, a concentração utilizada muitas vezes no alimento para inativar os microrganismos pode interferir com a qualidade sensorial do produto e uma alternativa para este problema pode estar associada à combinação de óleos essenciais, minimizando o efeito sensorial causado. Um óleo essencial que não apresenta relevante ação microbiana quando associado a outro óleo de maior poder antisséptico pode potencializá-lo, tornando-o um interessante agente antimicrobiano natural (ULTEE et al., 2000).

Diversos trabalhos tem avaliado a ação antimicrobiana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* (alecrim). No entanto, a ação inibitória do óleo de alecrim nos isolados de *Salmonella* utilizados neste experimento foi anteriormente analisada e nenhuma ação inibitória foi observada (MACEDO et al., 2017). Baseado no exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial sinérgico entre o óleo essencial de alecrim e os óleos de cardamomo, pimenta preta, manjerona e noz mocada sobre os isolados de *Salmonella*, obtidos de linguiças frescas.

### **2. METODOLOGIA**

#### **Isolados Bacterianos**

Foram analisados cinco isolados de *Salmonella* obtidos de amostras de linguças do tipo frescal, 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 a análise. Após o isolamento e confirmação por sorologia, os isolados foram estocados em caldo Infusão Cérebro e Coração (BHI, Acumedia) com glicerol e mantidos a uma temperatura de -18°C.

### Obtenção do Óleo Essencial

Foram utilizados os óleos essenciais de *Rosmarinus officinalis* (Alecrim), de *Elettaria cardamomum* (Cardamomo), de *Piper Migrum* (Pimenta Preta), de *Origanum majorana* (Manjerona) e de *Myristica Fragrans* (Noz Moscada), sendo todos obtidos comercialmente, em frascos âmbar, lacrados, com volume de 10 mL da Indústria Ferquima - Indústria e Comércio de Óleos Essenciais.

### Método de Disco-Difusão em Ágar

A suscetibilidade dos isolados ao óleo foi avaliada pelo método de disco-difusão de Kirk – Bauer (BAUER et al., 1966). Inicialmente, os isolados de *Salmonella* 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 foram semeados com o auxílio de um swab estéril em placas contendo ágar Mueller-Hinton (Acumedia, USA). Discos de papel filtro foram colocados nas placas e em seguida, 2,5 µL de cada óleo foi adicionado em cada disco para a difusão do mesmo no meio de cultura. Em cada disco foi adicionado dois óleos, sendo o óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) e um outro óleo, como cardamomo (*Elettaria Cardamomum*), manjerona (*Origanum Majorana*), pimenta preta (*Piper mingham*) ou noz moscada (*Myristica fragrans*). 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 dos óleos foi considerada quando os halos formados apresentavam um diâmetro superior a 12 mm (ROTA et al., 2008).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interação sinérgica entre o alecrim e os óleos essenciais testados sobre os isolados de *Salmonella* não foi observada, como pode ser demonstrado na Tabela 1. Os maiores halos observados neste experimento foram obtidos quando se associou o alecrim com a manjerona, visto que a atividade antibacteriana dos óleos foi considerada neste experimento quando o diâmetro dos halos formados fosse superior a 12 mm (ROTA et al., 2008). Diâmetro este observado no isolado obtido da amostra 85 (isolado 85) que apresentou um halo de 13 mm (Tabela 01). No entanto, esta ação inibitória já foi observada neste isolado, quando se investigou a atividade antimicrobiana apenas com o óleo essencial de manjerona (LUZ et al., 2017), demonstrando que não houve sinergismo entre os óleos testados neste estudo.

Isto pode ser explicado pelo fato que isoladamente, cada óleo essencial apresenta diversos compostos, e quando dois óleos são combinados, a interação entre as diversas substâncias químicas pode provocar um sinergismo, adição ou efeitos antagônicos (FU et al., 2007). Neste caso, como pode ser observado nos isolados 68 e 85 (LUZ et al., 2017), o efeito da interação do alecrim com a manjerona teve um efeito antagônico, quando observado a ação inibitória obtida com o óleo de manjerona, apresentando halos de 13 e 14mm, respectivamente.

**Tabela 1.** Avaliação do efeito sinérgico dos óleos essenciais estudados sobre isolados de *Salmonella*.

Isolados	Diâmetro dos Halos (mm)*			
	Alecrim / Cardamomo	Alecrim / Manjerona	Alecrim / Noz Moscada	Alecrim / Pimenta Preta
23	8	10	0	8
24	8	11	8	8
44	0	0	0	0
68	8	11	9	9
85	10	13	9	9

\* Diâmetros representam a média da triplicata.

#### 4. CONCLUSÕES

Os dados obtidos permitem concluir que não houve interação sinérgica entre o alecrim e os óleos testados. A atividade do óleo essencial de alecrim será ainda avaliada com outros microrganismos e outros óleos essenciais.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ayala-zavala, J. F., Wang, S. Y., González-aguiar, G. A. Methyl jasmonate in conjunction with ethanol treatment increases antioxidant capacity, volatile compounds and postharvest life of strawberry fruit. **Eur. Food. Res. Technol.** 221, 731–738, 2005

BAKKALI, F., et al. Biological effects of essential oils – **A review. Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.446 – 475, 2008.

BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, England, v.45, n.4, p.493-496, april, 1966.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential application in foods – a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, p.223-253, 2004.

DORMAN, H.J.D. & DEANS, S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. **Journal Applied Microbiology**, v.88, n.2, p.308-316, 2000.

ELGAYYAR, M. et al. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. **Journal of Food Protection**, v.64, n.7, p.1019-1024, 2001.

FU, Y., ZU, Y., CHEN, L., SHI, X., WANG, Z., SUN, S., & EFFERTH, T. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. **Phytotherapy Research**, 21, p.989-994, 2007.

LUZ, E.I.; ESPERON, B.M.; SIQUEIRA, M.F.F.; GARCIA, M.O.; GONZALEZ, H.L.; CONCEIÇÃO, R.C.S. Atividade inibitória do óleo essencial de *Origanum majorana* L. (manjerona) frente a isolados de *Salmonella* e *Staphylococcus coagulase positivos*. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2017, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Editora e Gráfica Universitária/UFPEL, 2017.

MACEDO, L.D. et al. Avaliação da propriedade antibacteriana do óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* sobre bactérias contaminantes de alimentos. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2017, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Editora e Gráfica Universitária/UFPEL, 2017.

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.

ULTEE, A.; KETS, E.P.; ALBERDA, M.; HOEKSTRA, F.A.; SMID, E.J. Adaptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. **Archives of Microbiology**, v.174, p.233-238, 2000.