



AValiação antibacteriana de extratos naturais

João Manoel Folador Rodriguez (IBEMA/UNICENTRO), Michele Cristiane Mesomo (DEALI/UNICENTRO), Osmar Roberto Dalla Santa (DEALI/UNICENTRO), Roberta Letícia Krüger (DEALI/UNICENTRO) (Orientadora), e-mail: betakruger@yahoo.com.br

Universidade Estadual do Centro-Oeste /Departamento de Engenharia de Alimentos.

Ciências Agrárias/Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Palavras-chave: atividade antimicrobiana, *Caryophyllus aromaticus* L., *Campomanesia xanthocarpa*.

Resumo:

Diversos extratos naturais, incluindo o de cravo da Índia e o de gabioba podem ter importante função antimicrobiana, a qual pode ser aproveitada para aplicação em alimentos. Assim, foram obtidos, via hidrodestilação, óleos essenciais de cravo e de gabioba, e testou-se a eficiência de cada um deles a nível de inibição frente a importantes micro-organismos. O óleo essencial de cravo da Índia mostrou-se eficiente frente as cepas de *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. aureus* e *P. aeruginosa* e não apresentou inibição para *L. monocytogenes*. Por sua vez, o extrato de gabioba apresentou potencial inibitório para as cepas de *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *E. coli* e *S. aureus*, sendo incapaz de impedir o crescimento das cepas de *L. monocytogenes* e *E. coli*. Com este estudo inicia-se um leque de possibilidades para aplicação destes extratos em alimentos, com o objetivo de aumentar a vida de prateleira e/ou evitar intoxicações alimentares.

Introdução

O uso de matérias primas de origem vegetal para a obtenção de extratos é uma atividade de grande interesse para a indústria de alimentos, de perfumes, de cosméticos e de fármacos. Extratos naturais de plantas têm sido utilizados para vários fins durante muitos anos (JONES, 1996) e, mais recentemente, investigados quanto ao seu potencial como medicamentos alternativos e para a preservação de alimentos (MESOMO, 2013).

O *Caryophyllus aromaticus* L. (*Eugenia Caryophyllata*) é conhecido popularmente como cravo da Índia e a utilização de compostos naturais

biologicamente ativos, ou princípios ativos oriundos dele têm tido merecedor de destaque (SOUZA, 2010).

A *Campomanesia* possui diversas denominações em diferentes regiões, porém, o fruto é mais conhecido como gabioba. Trata-se de um fruto arredondado, de cor amarelo-esverdeada, que é constituído por uma fina casca que envolve uma polpa esbranquiçada que, por sua vez, envolve as sementes (VALLILO et al., 2006).

Assim, este estudo vem testar a potencialidade dos óleos essenciais do cravo da Índia e da gabioba na inibição de micro-organismos importantes em alimentos.

Materiais e métodos

Matéria-prima

Os cravos da Índia foram adquiridos no comércio de Guarapuava/PR. Os frutos de gabioba foram coletados na região de Guarapuava, PR. Após a colheita, os frutos de gabioba foram lavados, classificados quanto a qualidade e secos em estufa de circulação de ar a temperatura de 40 °C ± 2 °C durante 72 horas.

Antes da extração, as amostras foram levemente moídas com auxílio de pistilo e gral a fim de facilitar o processo de extração do óleo por hidrodestilação, a qual seguiu metodologia recomendada pela Farmacopéia Brasileira (1999).

Avaliação da atividade antimicrobiana

As propriedades antibacterianas dos óleos essenciais de cravo da Índia e de gabioba foram testadas pelo método de difusão em ágar (BAUER et al., 1996). Foram testadas duas cepas de bactérias Gram-positivas, *Staphylococcus aureus* (ATCC25923), e *Listeria monocytogenes* (ATCC19111) e três cepas de bactérias Gram-negativas, *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC27853), *Escherichia coli* (ATCC25922), *Salmonella typhimurium* (ATCC14028).

As cepas selecionadas foram inoculadas em 10 mL de caldo tripticase de soja (TSB) a 37 °C por 24 horas. Suspensões dessas bactérias (100 µL) serão preparadas, ajustadas comparando-se com tubo padrão de turbidimetria 0,5 da escala Mc Farland e semeadas usando swab estéril em placas contendo ágar tripticase de soja (TSA). Depois da completa absorção do inóculo pelo meio de cultura serão feitos poços (orifícios) de 7 mm de diâmetro. Cada óleo essencial foi dissolvido em DMSO (1 mL de óleo/extrato em 3 mL de DMSO) e 40 µL dessa solução será adicionada nos diferentes poços (orifícios) nas placas. As placas foram mantidas a temperatura ambiente (20 °C) por 3 horas para a difusão da solução no meio de cultura antes do crescimento das bactérias e incubadas a 37°C por 24 horas. Como controle negativo foi usado 40 µL de DMSO e como controle positivo 40 µL de água pura esterilizada. A atividade antimicrobiana foi determinada pela formação ou não de halos de inibição ao redor dos poços (orifícios). Os ensaios foram realizados em triplicata.

Resultados e Discussão

Na Tabela 1, estão descritos os resultados da investigação da atividade antibacteriana.

Tabela 1 – Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo da índia e gabirola frente a diferentes bactérias. Medidas dos halos de inibição seguidos do desvio padrão.

| Cepa | Diâmetro médio (mm) | |
|-------------------------|----------------------|---------------------|
| | Cravo da índia | Gabirola |
| <i>S. aureus</i> | 7,22 (\pm 0,634) | 6,12 (\pm 1,953) |
| <i>L. monocytogenes</i> | * | * |
| <i>P. aeruginosa</i> | 4,46 (\pm 0,616) | 2,70 (\pm 0,576) |
| <i>E. coli</i> | 11,04 (\pm 1,036) | * |
| <i>S. typhimurium</i> | 8,40 (\pm 1,308) | 0,80 (\pm 0,100) |

Nota: * não houve formação de halo, ou seja, não houve inibição.

O diâmetro médio dos halos formados foi o parâmetro considerado para a verificação da eficácia antimicrobiana do extrato de cravo da índia frente às seis cepas já descritas. Verificou-se que o extrato de cravo da índia tem maior eficiência contra a cepa de *E. coli* e *S. typhimurium*, em contrapartida, obteve menor eficiência contra a cepa de *P. aeruginosa*. Já, contra a cepa de *L. monocytogenes*, o extrato se mostrou ineficaz.

O extrato de gabirola, por sua vez, possui maior potencial antimicrobiano contra a cepa de *S. aureus* e, em segundo plano, contra as cepas de *P. aeruginosa* e *S. typhimurium*, respectivamente. Frente as cepas de *L. monocytogenes* e *E. coli*, o extrato de gabirola não mostrou capacidade antimicrobiana.

A Figura 1a, exemplifica a ação dos óleos essenciais contra a cepa de *S. aureus* e a Figura 1b representa o potencial antimicrobiano dos óleos essenciais contra a cepa de *L. monocytogenes*.

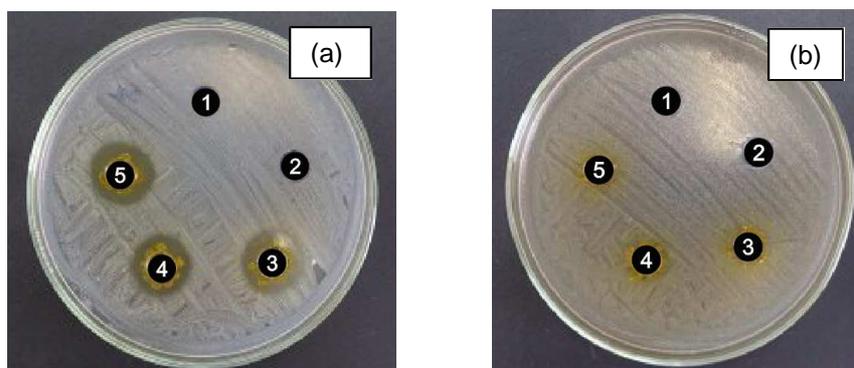


Figura 1 – Resultado do teste antimicrobiano dos óleos essenciais, (a) contra o *S. aureus* e (b) contra o *L. monocytogenes*

Nessas figuras, o número 1 representa o controle negativo (água pura esterilizada) e o 2 representa o controle positivo (DMSO). O óleo essencial de cravo da índia está no poço número 3. O óleo essencial de gabirola está

no poço número 5. O outro poço contém outro extrato utilizado para a sequência deste trabalho. Nota-se eficácia considerável dos extratos na inibição contra o *S. aureus* (a), devido a formação dos halos (espaço em torno dos óleos onde não houve crescimento bacteriano). Por outro lado, os extratos não inibiram a cepa de *L. monocytogenes* (b), pois não se observa a formação do halo de inibição.

Conclusões

O presente estudo comprovou o potencial antibacteriano dos extratos de cravo da Índia e gabioba frente a micro-organismos de importância em alimentos, como *E. coli* e a *S. typhimurium*. Estes resultados indicam que estes extratos podem ser utilizados em estudos de aplicação deste como um aditivo natural para retardar o desenvolvimento de micro-organismos em alimentos, diminuindo ou substituindo a adição de conservantes químicos.

Agradecimentos

À Empresa Papeleira IBEMA e ao CNPq pelo apoio financeiro e a UNICENTRO pela infraestrutura.

Referências

BAUER, A.W., KIRBY, W.M.M., SHERRIS, J. C., TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. *Am. J. Clin. Pathol.*, (45), 493-496, 1996.

JONES, F.A. Herbs – useful plants - Their role in history and today. *Eur J Gastroen Hepat*, 8, 1227-1231, 1996.

MESOMO, M. C. Obtenção de extrato de gengibre (*Zingiber officinale Roscoe*) usando CO₂ supercrítico e propano comprimido: cinética de extração e atividade biológica. 2013. 78f. Tese de doutorado – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

SOUZA, N. A. B. de. Possíveis mecanismos de atividade antifúngica de óleos essenciais contra fungos patogênicos. Tese de doutorado em Produtos naturais e sintéticos bioativos. Universidade Federal da Paraíba/ PB. 2010.

VALLILO, M. I.; LAMARDO, L. C. A.; GARBELOTTI, M. L.; OLIVEIRA, E.; MORENO, P. R. H. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. BERG/Chemical composition of *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O. BERG fruits. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 26, n. 4, p. 805-810, 2006.