

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO ESSENCIAL *Origanum majorana* L. FRENTE A ALGUMAS CEPAS BACTERIANAS PATOGENAS

**MARQUES, Juliana de Lima<sup>1</sup>; VOLCÃO, Lisiane Martins<sup>2</sup>; RIBEIRO, Gladis  
Aver<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – Ciências Biológicas (Bacharelado); <sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Microbiologia e Parasitologia. ju\_marques@hotmail.com

### 1 INTRODUÇÃO

Há uma preocupação na indústria de alimentos para que removam o máximo possível os conservantes químicos ou que adotem alternativas naturais para a preservação do tempo de prateleira dos produtos alimentícios. Entre as alternativas está o chamado Sistema Antimicrobiano Natural, o qual poderia ser usado como alternativa na conservação de alimentos (TASSOU et al., 1995).

Os óleos essenciais são originados do metabolismo secundário das plantas e possuem composição química complexa, destacando-se a presença de terpenos e fenilpropanoides (GONÇALVES et al., 2003; SILVA et al., 2003). A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais e extratos de plantas têm apresentado muitas aplicações, incluindo conservação de alimentos crus e processados, produtos farmacêuticos, medicina alternativa e terapias naturais (HAMMER et al., 1999).

A literatura científica na área da ciência e tecnologia de alimentos tem mostrado, nos últimos anos, um enfoque no estudo do potencial antimicrobiano das especiarias considerando a sua inclusão nos chamados sistemas de bioconservação de alimentos. A bioconservação de alimentos é um sistema de preservação amplamente aceito, sendo referido como um procedimento natural capaz de prover a extensão do tempo de prateleira e satisfatória segurança microbiológica de alimentos (FIORENTINI et al., 2001; RISTORI; PEREIRA; GELLI, 2002; UTAMA et al., 2002).

A ação inibitória das especiarias e de seus óleos nos diferentes microrganismos tem sido relatada em diversos estudos (OATTARA et al., 1997). Além da propriedade aromatizante, os condimentos vegetais poderiam aumentar o tempo de prateleira dos alimentos por sua atividade bacteriostática e bactericida, retardando a deterioração e o crescimento de microrganismos indesejáveis, interferindo significativamente na epidemiologia e profilaxia de surtos toxinfetivos alimentares (BEDIN et al., 1999; SOUZA, 2003).

A manjerona (*O. majorana* L.) é um dos temperos mais utilizados na culinária e seus produtos identificados são, geralmente, compostos das folhas e das copas floridas secas. No óleo essencial de manjerona são encontrados isômeros terpênicos fenólicos, carvacrol e timol (FELTROW; ÁVILA, 2000; RODRIGUES; CARAMÃO; ZINI, 2003). Atualmente, seu óleo essencial vem despertando interesse por possuir atividade biológica (antibacteriana, antifúngica e antioxidante). Na indústria de alimentos, o óleo destilado tem larga aplicação, levando em conta sua grande estabilidade de conservação e ausência de contaminação microbiológica (RODRIGUES; CARAMÃO; ZINI, 2003; BLANCO, 2004; OKA; ROPERTO, 2004).

Com base no exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *O. majorana* L. frente a cepas bacterianas patogênicas.

## 2 METODOLOGIA

O óleo essencial de *O. majorana* L. foi cedido pelo Laboratório de Bacteriologia, da Universidade Federal de Pelotas, Capão do Leão/RS.

As cepas bacterianas utilizadas para a realização do experimento foram *Escherichia coli* O157:H7, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, e *Enterobacter aerogenes*, as quais pertencem a Bacterioteca do Laboratório de Bacteriologia do Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia da UFPel. Todas as cepas foram conservadas em meio ágar-conservação, recuperadas em Brain Heart Infusion Agar (BHI-Acumedica®) e incubadas a 36°C durante 24h.

Para a avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial da manjerona foi utilizada a técnica de Microdiluição em caldo. Para isso, foram utilizadas placas de microtitulação com 96 cavidades. O meio utilizado continha caldo BHI (Acumedica®) e agente emulsificante, Tween (T80) a 1%. Foram realizadas sete diluições do óleo acrescido ao meio, obtendo concentrações finais de 0,781 µL/mL a 100 µL/mL.

Em relação à montagem das placas, foram adicionados em cada cavidade 100 µL da solução (meio+T80+óleo). A partir da recuperação das cepas, o inóculo foi preparado e ajustado à escala 0,5 de Mac Farland ( $1,5 \times 10^8$  UFC/mL) e após foram realizadas diluições de 1:20 com a finalidade de atingir uma população bacteriana final de  $10^5$  UFC/mL para exposição às concentrações dos óleos. Foram adicionados 100 µL de inóculo às cavidades que já continham as diluições do meio+óleo. As microplacas foram incubadas a 36°C por 24h. Controles positivos e negativos foram feitos para determinar a viabilidade celular e a ausência de contaminação.

Para calcular a Concentração Inibitória Mínima (CIM), acrescentou-se 0,05 mL de Cloreto de 2,3,5 – Trifenil Tetrazólio, o qual indica a atividade metabólica bacteriana com modificações na coloração (de transparente à vermelho). Tal concentração é avaliada como sendo a menor concentração do óleo com capacidade de inibir o crescimento microbiano. As microplacas foram incubadas a 36°C durante vinte minutos. Com relação à Concentração Bactericida Mínima (CBM), a qual se refere à menor concentração capaz de impedir o crescimento microbiano em meio de cultura sem a presença do óleo, sendo identificada a partir da retirada de 5 µL de cada diluição inibida e então semeada em ágar BHI e incubadas por 24h a 36°C. Foram realizadas trélicas de cada experimento.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 podemos verificar que o óleo essencial *O. majorana* L. apresentou atividade antibacteriana em relação às cepas analisadas. As cepas *B. cereus* e *E.coli* foram inibidas por uma concentração de 12,5 µL/mL do óleo essencial de manjerona. Já para *E. aerogenes* e *E. faecalis* a CIM do óleo se deu à concentração de 6,25 µL/mL.

Deans e Svoboda (2006) em pesquisa acerca da atividade antimicrobiana do óleo de *O. majorana* L. sobre algumas espécies de bactérias e fungos, identificaram poder inibitório sobre bactérias, o que foi verificado também em nossos resultados.

Tabela 1: Valores referentes ao CBM (Concentração Bactericida Mínima) e CIM (Concentração Mínima Inibitória) do óleo essencial de *Origanum majorana* L. frente a cepas bacterianas testadas.

Cepas Bacterianas	CBM (mL.mL <sup>-1</sup> )	CIM (mL.mL <sup>-1</sup> )
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	50	12,5
<i>Bacillus cereus</i>	50	12,5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	12,5	6,25
<i>Enterococcus faecalis</i>	> máxima testada	< mínima testada

Embora haja exceções na literatura, em geral as bactérias gram-positivas são mais susceptíveis do que as bactérias gram-negativas aos compostos lipofílicos dos óleos essenciais. Uma possível explicação para esta atividade pode estar relacionada à dificuldade dos óleos essenciais em difundir a membrana externa, pois existe uma barreira hidrofílica que impede a passagem de macromoléculas e combinações hidrofóbicas, embora não seja totalmente impermeável. Devido a isso, as bactérias gram-negativas são relativamente resistentes a combinações de antibióticos hidrofóbicos e drogas tóxicas. (HELANDER et al., 1998; KALEMBA e KUNICKA, 2003; BAGAMBOULA et al., 2004). Porém, isso não foi constatado em nossos resultados visto que *B. cereus* e *E. aerogenes*, gram-positivo e gram-negativo respectivamente, mostram resultados contrários aos estudos, ou seja, *B. cereus* foi mais resistente ao óleo essencial do que *E. aerogenes*. Já *E. faecalis* corroborou com os estudos, visto que é uma bactéria gram-positiva, e mostrou-se menos resistente frente ao óleo de *O. majorana* L. indicando atividade bacteriostática em todas as concentrações testadas, o que significa que apenas inibiu o crescimento das bactérias e não as inviabilizou.

Vale ressaltar que existem fatores que podem interferir nos valores da CIM, obtidos por meio de métodos de difusão e diluição, dentre eles: condições de cultivo (tempo de incubação, temperatura, taxa de oxigênio), meio de cultura, concentração das substâncias testadas, dispersão e emulsificação dos agentes utilizados na emulsão óleo-água (RIOS; RECIO, 2005).

#### 4 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, pode-se observar que o óleo essencial de *O. majorana* L. foi eficaz com relação a atividade antibacteriana frente às cepas testadas. Sendo assim, considera-se importante a realização de outros estudos com o intuito de desenvolver fármacos naturais e/ou alternativas para a substituição de aditivos químicos em alimentos.

#### 5 REFERÊNCIAS

BAGAMBOULA, C.F.; UYTTENDAELE, M.; CANDAN, F.; DAFERERA, D.; UNLI, G.V.; POLISSIOU, M.; SOKMEN, A. Antimicrobial and Antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *S. cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *S. multicaulis* (Vahl.) **Food Chemistry**. 84, p.519-525, 2004.

BEDIN, C.; GUTKOSKI, S. B.; WIEST, J. M. Atividade antimicrobiana das especiarias. **Higiene Alimentar**, v. 13, n. 65, p. 26-29, 1999.

FELTROW, C.W.; AVILA, J.R. **Manual de Medicina alternativa para o profissional de saúde**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 743p, 2000.

FIORENTINI, A. M. et al. Influence of bacteriocins produced by *Lactococcus plantarum* BN in the shelf-life of refrigerated bovine meat. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 42-46, 2001.

GONÇALVES LA, BARBOSA LCA, AZEVEDO AA, CASALI VWD, NASCIMENTO EA. Produção e composição do óleo essencial de alfavaquinha (*Ocimum selloi* Benth.) em resposta a dois níveis de radiação solar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** 6, p.8-14, 2003.

HAMMER, K.A.; CARSON, C.F.; RILEY, T.V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology**, v.86 p.985-990, 1999.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. **Current Medicinal Chemistry**. 10, p. 813-829, 2003.

OATTARA, B. et al. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. **International Journal of Food Microbiology**, v. 37, n. 2-3, p. 155-162, 1997.

RODRIGUES, M. R. A.; CARAMÃO, E. B.; ZINI, P. P. **Estudos dos óleos essenciais de Manjerona e de orégano cultivados no Rio Grande do Sul**. 2004.

SILVA AF, BARBOSA LCA, SILVA EAM, CASALI VWD, NASCIMENTO EA 2003. Composição química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** 6, p. 1-7.

SOUZA, E.L. Especiarias: uma alternativa para o controle da qualidade sanitária e de vida útil de alimentos, frente às novas perspectivas da indústria alimentícia. **Higiene alimentar**, v.17, n.113, p.38-42, 2003.

SVOBODA, K. P.; DEANS, S.G. Biological activities of essential oils from selected aromatic plants. **Acta Horticulture**. 390, p. 203-209, 1995.

TASSOU, C.C., DROSINOS, E.H., NYCHAS, G.J.E. Inhibition of resident microbial flora and pathogen inocula on cold fresh fish fillets in olive oil, oregano, and lemon juice under modified atmosphere or air. **Journal of Food Protection**, v.59, n.1, p.31-4, 1995.