

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE CANELA (*Cinnamomum verum*) E ORÉGANO (*Origanum vulgare*) APÓS TRATAMENTOS TÉRMICOS

Adryelen Cassiano Martins (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Larissa Franciscatti Hoffmann, Milene Ribeiro da Silva, Cristiane Mengue Feniman Moritz (Orientadora), e-mail: crisfeniman@yahoo.com.br.

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Tecnologia/Umuarama, PR.

Ciência e Tecnologia de Alimentos/ Microbiologia de Alimentos

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana; óleos essenciais; estabilidade; calor.

Resumo: Este estudo teve como objetivo verificar se há variação na atividade antimicrobiana dos óleos essenciais quando expostos ao calor. Foram determinadas as Concentração Inibitória Mínima (CIMs) e Concentrações Bactericidas Mínimas (CBMs) dos óleos essenciais de canela e orégano contra *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach e *Escherichia coli*, sendo comparados os tratamentos dos óleos essenciais submetidos ao calor de 40, 60, 80 e 100 °C por uma hora. Considerou-se como tratamento controle a temperatura ambiente. O tratamento térmico não alterou a atividade antibacteriana dos óleos essenciais de canela e orégano contra as bactérias *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach e *Escherichia coli*.

Introdução

Os óleos essenciais (OEs) são considerados complexos quanto à sua composição química, constituída principalmente por substâncias voláteis e instáveis quando em contato com o oxigênio, umidade e calor (HIJO et al., 2015). Conseqüentemente, a exposição dos óleos essenciais ao calor pode provocar a degradação de compostos químicos que contribuem para a atividade antimicrobiana dos mesmos, comprometendo a aplicação como antimicrobianos.

Este estudo teve como objetivo verificar se há variação na atividade antimicrobiana dos óleos essenciais quando expostos ao calor.

Materiais e métodos

Foram utilizados os óleos essenciais de canela (*Cinnamomum verum*) e orégano (*Origanum vulgare*), obtidos comercialmente da marca Laszlo. Cada óleo essencial foi considerado um modelo experimental. Foram estipuladas as temperaturas de 40, 60, 80 e 100 °C como tratamentos experimentais. Considerou-se como tratamento controle a temperatura ambiente.

Para cada modelo experimental, foram preparados dez vials contendo 1,0 mL de óleo essencial, sendo preparados cinco vials fechados e cinco vials abertos, que foram submetidos às temperaturas estipuladas por 1 hora em estufa (os tratamentos controles permaneceram sobre a bancada em temperatura ambiente de 24 °C). Após o término do tempo de tratamento, os vials que estavam abertos foram fechados e todos foram resfriados imediatamente a 7 °C, permanecendo armazenados nessa condição até a verificação da atividade antimicrobiana.

Utilizou-se o método da microdiluição (CLSI, 2009) em microplacas para as concentrações de 25,6, 12,8, 6,4, 3,2, 1,6, 0,8, 0,4, 0,2, 0,1 e 0,05 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$ dos óleos essenciais contra as bactérias *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach INCQS 00381 (ATCC 29213) e *Escherichia coli* INCQS 00033 (ATCC 25922), provenientes da Coleção de Micro-organismos de Referência em Vigilância Sanitária – CMRVS, FIOCRUZ-INCQS, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

As microplacas foram incubadas em aerobiose a 37 °C por 24 horas. Para a leitura da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram adicionados 50 μL do indicador resazurina 0,01% em cada poço. As microplacas permaneceram sob refrigeração a 7 °C (*overnight*) para a realização da leitura. O desenvolvimento de coloração rosa nos poços da microplaca indicou o crescimento bacteriano e a permanência da coloração azul indicou a inibição bacteriana.

Após incubação foram realizados repiques de cada poço em placas de Petri contendo Ágar Muller Hinton (MH), sendo essas placas incubadas em condições de aerobiose a 37 °C por 24 horas. O não desenvolvimento de colônia bacteriana no repique de cada poço indicou a atividade bactericida, Concentração Bactericida Mínima (CBM).

Para cada bactéria foram destinadas quatro linhas na microplaca, obtendo-se então quatro replicatas, sendo a CIM e a CBM consideradas a menor concentração com inibição ou morte bacteriana, respectivamente, em pelo menos três replicatas.

Resultados e Discussão

Os valores encontrados como a CIM dos óleos essenciais em estudo estão apresentados na Tabela 1.

Observou-se que o aumento da temperatura no sistema aberto, proporcionou uma maior atividade inibitória do OE de canela, já que o mesmo apresentou menor valor de CIM, indicando que foi necessária uma menor concentração de óleo para inibir o crescimento de *Staphylococcus aureus* subsp. *Aureus* Rosenbach. O mesmo não ocorreu para o OE de orégano, dado que os valores de concentrações inibitórias oscilaram (aumentaram e diminuíram) com a variação da temperatura no sistema aberto e se mantiveram constante no sistema fechado.

Já para a *Escherichia coli*, o tratamento com calor em sistema aberto não se mostrou promissor, devido a constância nos valores de CIM em diferentes tratamentos térmicos para o OE de canela; e a oscilação nas CIMs tanto para o óleo de canela quanto para o óleo de orégano.

Tabela 1 – Concentrações Inibitórias Mínimas (CIM) dos óleos essenciais de canela e orégano, tratados pelo calor, em sistema aberto (A) e sistema fechado (F).

Bactérias	Tratamento pelo calor do óleo essencial	Canela CIM ($\mu\text{L.mL}^{-1}$)		Orégano CIM ($\mu\text{L.mL}^{-1}$)	
		A	F	A	F
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>Aureus</i> Rosenbach (ATCC 29213)	TA	0,8	1,6	12,8	6,4
	40 °C	0,4	1,6	6,4	6,4
	60 °C	0,4	0,8	12,8	6,4
	80 °C	0,4	0,4	12,8	6,4
	100 °C	0,2	0,8	6,4	6,4
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	TA	0,8	1,6	12,8	12,8
	40 °C	0,8	1,6	12,8	12,8
	60 °C	0,8	1,6	25,6	12,8
	80 °C	0,8	0,8	25,6	12,8
	100 °C	0,8	0,8	12,8	12,8

Os valores encontrados como a CBM dos óleos essenciais em estudo estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Concentrações Bactericidas Mínimas (CBM) dos óleos essenciais de canela e orégano, tratados pelo calor, em sistema aberto (A) e sistema fechado (F).

Bactérias	Tratamento pelo calor do óleo essencial	Canela CIM ($\mu\text{L.mL}^{-1}$)		Orégano CIM ($\mu\text{L.mL}^{-1}$)	
		A	F	A	F
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>Aureus</i> Rosenbach (ATCC 29213)	TA	0,8	1,6	12,8	6,4
	40 °C	0,4	1,6	6,4	6,4
	60 °C	0,4	1,6	25,6	6,4
	80 °C	0,8	0,8	12,8	12,8
	100 °C	0,4	0,8	6,4	6,4
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	TA	0,8	1,6	25,6	12,8
	40 °C	0,8	6,4	25,6	12,8
	60 °C	0,8	6,4	25,6	12,8
	80 °C	1,6	6,4	25,6	12,8
	100 °C	0,8	3,2	25,6	12,8

Diferente dos valores de CIMs, não foi possível identificar uma maior atividade bactericida no OE de canela e nem no OE orégano para o tratamento térmico em ambos sistemas, pois, os mesmos mantiveram os valores constantes, como é o caso do OE de orégano, ou apresentaram valores que oscilaram conforme a mudança na temperatura do tratamento, como para o OE de canela.

Os óleos essenciais por serem constituídos por uma mistura complexa de substâncias voláteis e consideradas instáveis quanto expostas à luz, ao oxigênio, à

umidade e ao calor, esperava-se que o tratamento térmico dos óleos essenciais deste estudo poderia provocar a degradação dos compostos químicos que contribuem para a atividade antimicrobiana dos mesmos. No entanto, os resultados demonstraram que mesmo quando os óleos essenciais de canela e orégano foram submetidos ao calor, simulando um processo de produção em sistema aberto ou no produto embalado em sistema fechado, não houve interferência na atividade antimicrobiana dos óleos essenciais, o que possibilita a confiabilidade em suas funcionalidades, mesmo em condições de aquecimento de até 100 °C por uma hora.

Conclusões

O tratamento térmico não alterou a atividade antibacteriana dos óleos essenciais de canela e orégano contra as bactérias *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach e *Escherichia coli*.

Agradecimentos

À Fundação Araucária pela bolsa acadêmica concedida para a realização deste estudo.

Referências

BOSKOVIC, M.; NEMANJA, Z.; IVANOVIC, J.; JANJIC, J.; DJORDJEVIC, J.; STARCEVIC, M.; BALTIC, M. Z. Antimicrobial activity of thyme (*Tymus vulgaris*) and oregano (*Origanum vulgare*) essential oils against some food-borne microorganisms. **Procedia Food Science**, v. 5, p. 18-21, 2015.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE / National Committee for Clinical Laboratory Standards (CLSI/NCCLS). **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Wayne: CLSI/NCCLS document M7-A8, 2009.

EL AMRANI, S.; LALAMI, A. E. O.; EZ ZOUBI, A. Y.; MOUKHAFI, K.; BOUSLAMTI, R.; LAIRINI, S. Evaluation of antibacterial and antioxidant effects of cinnamon and clove essential oils from Madagascar. **Materials today: proceedings**. v. 13, p. 762-770, 2019.

SAKI, M.; SEYED-MOHAMMADI, S.; MONTAZERI, E. A.; SIAHPOOSH, A.; MOOSAVIAN, M.; LATIFI, S. M. In vitro antibacterial properties of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil against clinical extensively drug-resistant bacteria. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 37, 101146 2020.

THIELMANN, J.; MURANYI, P.; KAZMAN, P. Screening essential oils for their antimicrobial activities against the foodborne pathogenic bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Heliyon**. v.5, e01860 2019.