

Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* de óleo essencial de alho sobre bactérias patogênicas

Rafaella Lidia dos Santos Moreno

Resumo: Por definição, condimentos e especiarias são produtos de origem vegetal empregados principalmente para conferir sabor aos alimentos. Além dessa utilidade, as plantas em geral são utilizadas com fins medicinais para tratamento, cura e prevenção de doenças desde os primórdios da humanidade. Há pesquisas relacionadas à agricultura com utilização de extratos de plantas para combate a pragas e diminuição do uso de agrotóxicos para diminuição de contaminantes para o solo e alimentos, gerando uma agricultura mais sustentável. O alho, além de seu uso básico nas cozinhas de todo o mundo, tem propriedades antimicrobianas, antifúngicas e antioxidantes, podendo ser utilizado em diversas áreas, além da nossa cozinha tradicional. Esse trabalho teve como objetivo utilizar o extrato oleoso do alho (*Allium sativum*) quanto à atividade antimicrobiana *in vitro* sobre *Enterococcus faecium*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Achromobacter xylosoxidans* utilizando-se a técnica de plaqueamento em réplica em Agar Sangue contendo discos embebidos com óleo essencial de alho. Houve ação antimicrobiana do extrato oleoso do alho apenas com o microrganismo *Escherichia coli* apresentando-se sensível com halo de 20 mm. Os demais microrganismos apresentaram-se resistentes ao óleo.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana; Alho; Óleo essencial; *Allium sativum*.

Abstract: By definition, condiments and spices are products of vegetable origin mainly used to impart flavor to food. In addition to this utility, plants are generally used for medicinal purposes for the treatment, cure and prevention of diseases from the earliest days of mankind. There is research related to agriculture using plant extracts to combat pests and decrease the use of agrochemicals to reduce contaminants to the soil and food, generating a more sustainable agriculture. Garlic, in addition to its basic use in kitchens around the world, has antimicrobial, antifungal and antioxidant properties, and can be used in many different areas besides our traditional cuisine. The objective of this work was to use the extract of garlic (*Allium sativum*) for *in vitro* antimicrobial activity on *Enterococcus faecium*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Achromobacter xylosoxidans* using the plating technique in replica in Blood Agar containing disks soaked with garlic essential oil. There was an antimicrobial action of the oil extract of the garlic only with the microorganism *Escherichia coli* being sensitive with halo of 20 mm. The other microorganisms were resistant to oil.

Keywords: Antimicrobial activity; Garlic; Essential oil; *Allium sativum*.

Introdução

O alho (*Allium sativum*) é um condimento muito utilizado para conferir sabor aos alimentos, e atualmente é de grande interesse dietético, nutricional, na área farmacêutica, na profilaxia e tratamento de diversas doenças, sendo utilizado como antioxidante, antimicrobiano, antifúngico, entre outros (1) (5) (6) (10). O alho é citado desde a antiguidade como um fitoterápico que pode tratar diversas patologias, principalmente infecções, com associação ou não à antimicrobianos com objetivo de combater bactérias resistentes (1) (2) (10). Com o aparecimento de questionamentos referente à utilização de produtos químicos em demasia e o surgimento de bactérias multirresistentes à antibióticos de amplo espectro, vem sendo utilizado produtos naturais para uma alternativa no controle de doenças e pragas (2) (7) (9). Os óleos essenciais são fontes naturais para desenvolvimento de produtos novos (5) (7). São utilizados óleos essenciais de plantas medicinais para explorar a atividade antimicrobiana e para controle de fungos e bactérias, e exercem um papel fundamental no controle de microrganismos (3) (4) (5) (7) (8). Os óleos podem ser extraídos de vários lugares das plantas, como flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutas, raízes, madeira e cascas da árvore e dos frutos (8). O óleo essencial do alho, extraído após a maceração do bulbo, libera a alina, que sofre ação da enzima alinase e se transforma em alicina, onde é encontrada a principal atividade antimicrobiana (2) (3) (10). As propriedades do alho utilizadas em estudos *in vitro* estão relacionadas com seus compostos bioativos. A alicina é ativa em células microbianas que levam à inibição e proliferação de bactérias e fungos e é um dos compostos responsável por suas propriedades medicinais (3) (4) (6) (11), sendo que ela é ativa tanto contra bactérias Gram positivo e Gram negativo (3) (6). Sendo assim, o presente estudo propõe avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana de óleo essencial de alho sobre bactérias patogênicas.

Materiais e Métodos

1. Amostras Vegetais

As amostras de alho (*Allium sativum* L.) foram coletadas no comércio da cidade de Catanduva-SP na região de São José de Rio Preto-SP. As amostras de alho foram conduzidas ao Laboratório de Química e Microbiologia da União das Faculdades dos Grandes Lagos (UNILAGO) de São José de Rio Preto-SP.

2. Preparo do Extrato Vegetal

Os bulbos de alho (*Allium sativum* L.) foram descascados e cortados em pequenos pedaços.

3. Obtenção do Extrato Oleoso

Após processamento mínimo, os pedaços de alho foram embebidos em hexano por três dias (maceração). Foi preparado 1 quilo de alho e utilizado 1 litro de hexano. Após a maceração, o alho foi separado do hexano já contendo a fração oleosa. Os resíduos (bagaço) derivados da maceração a frio do alho em hexano foram prensados mecanicamente para a obtenção do extrato oleoso retido nos mesmos. A mistura (hexano com a fração oleosa) foi levada para o evaporador rotativo, com a finalidade de separação da fração oleosa do hexano, com utilização de temperatura de 75° C por 2 horas. Após o processo, o extrato oleoso foi adicionado em um Becker e levado ao banho-maria a 60°C por 2 horas com o objetivo de eliminação de possíveis resíduos do composto químico. O extrato oleoso do alho foi armazenado em frasco de vidro âmbar vedado conservando-o contra fatores externos do meio.

4. Obtenção dos Microrganismos

Os microrganismos utilizados *Enterococcus faecium*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Achromobacter xylosoxidans* foram cedidas pela Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FAMERP).

5. Ensaio de resistência aos óleos essenciais do alho

Para esta prova foram utilizados inóculo padronizados de 07 microrganismos, previamente crescidos a 37°C, por 24 horas, em caldo nutriente. Os mesmos foram inoculados pela técnica de plaqueamento em réplica, em Ágar Sangue, contendo discos embebidos com o óleo essencial do alho. Todas as placas semeadas posteriormente foram incubadas a 37°C, por 24 e 48 horas, com a finalidade de se verificar a resistência ou não dos microrganismos frente ao óleo testado.

Resultados e Discussão

No levantamento realizado nos artigos relacionados relataram que o tamanho do halo de inibição indica a maior ou menor suscetibilidade dos microrganismos frente às substâncias inibidoras. Classificaram os halos de inibição com base no tamanho do diâmetro (incluindo o diâmetro do disco de papel filtro), sendo os valores menores que 7mm considerados não ativos contra os microrganismos testados. Os halos de inibição de 12mm de diâmetro ou maiores foram considerados como os de melhor efeito inibitório provocado pelo óleo essencial testado.

Microrganismos	Halo
<i>Enterococcus faecium</i>	Resistente
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Resistente
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Resistente
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Resistente
<i>Escherichia coli</i>	Sensível
<i>Staphylococcus aureus</i>	Resistente
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	Resistente

Tabela 1: Relação de microrganismos testados em relação a sua sensibilidade ao óleo de alho (*Allium sativum* L.)

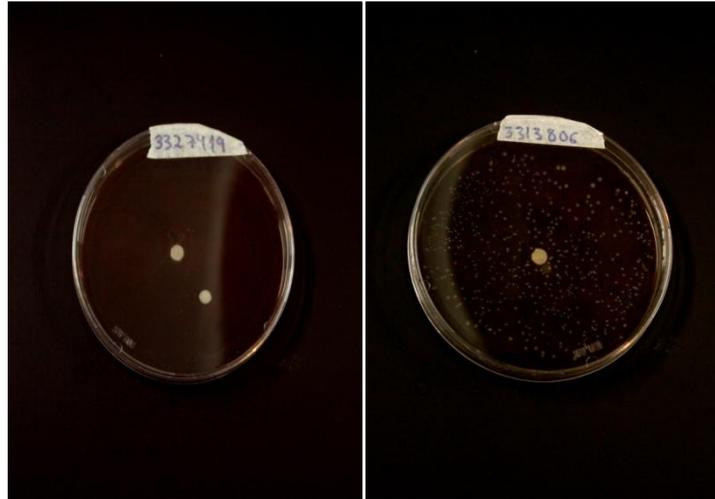


Figura 1: Placas com inóculo em Agar Sangue

De acordo com os resultados apresentados pela Tabela 1 e Figura 1 observou-se que apenas o microrganismo *Escherichia coli* (3327419) apresentou-se sensível ao óleo essencial do alho com halo de 20mm confirmando os resultados obtidos nos artigos relacionados. Os outros microrganismos testados apresentaram-se resistentes ao óleo.

Conclusão

De acordo com os resultados obtidos verificou-se que o óleo essencial de alho teve apenas atividade antimicrobiana sobre o microrganismo *Escherichia coli* não apresentando atividade sobre os outros microrganismos testados.

Referências Bibliográficas

1. DE ARRUDA MILANI, Helena Luisa et al. Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro do alho (*allium sativum*) in natura. **Acta Scientiae Biological Research**, v. 1, n. 1, 2016.
2. DE MEDEIROS FELIX, Aniele Larice; MEDEIROS, Iara Luiza; DE MEDEIROS, Francinalva Dantas. *Allium Sativum*: uma nova abordagem frente a resistência microbiana-uma revisão/*Allium Sativum*: a new approach to microbial resistance-a review. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 1, n. 1, p. 201-207, 2018.
3. PINILLA, Cristian Mauricio Barreto. Desenvolvimento, caracterização e avaliação da atividade antimicrobiana de nanolipossomas contendo nisina e extrato de alho (*Allium sativum* L.). 2016.
4. DANTAS, Thamires Lacerda et al. ESTUDO ETNOFARMACOLÓGICO DE PLANTAS MEDICINAIS: ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE ALLIUM SATIVUM L.(ALHO) E BIXA ORELLANA L.(URUCUM). **Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management**, v. 14, n. 1, 2018.
5. FERREIRA, Jéssica Ameno et al. Eficiência da ação antimicrobiana do óleo essencial de alho (*Allium sativum*). **Sinapse Múltipla**, v. 5, n. 2, p. 102, 2016.
6. BOTAS, Joana. **Caracterização química e propriedades bioativas de *Allium sativum* L. com diferentes proveniências e processamentos**. 2017. Tese de Doutorado.
7. OOTANI, Marcio Akio et al. Utilização de óleos essenciais na agricultura. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 4, n. 2, 2013.

8. MAIA, Tatiana Faria; DONATO, A.; FRAGA, Marcelo Elias. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande**, n. 1, 2015.

9. MINISTÉRIO DA SAÚDE E ANVISA. Monografia da espécie *Allium sativum* (Alho). Brasília, 2015.

10. SANTOS, M. B. et al. Efeito inibitório in vitro de extrato vegetal de *Allium sativum* sobre *Aspergillus niger* Tiegh. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 1, p. 13-17, 2010.

11. Martins, N., Petropoulos, S., Ferreira, I.C.F.R. (2016). Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and pos-harvest conditions: A review. *Food Chemistry*, 211, 41-50.