

## OBJETIVOS

Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) de cinco quimiotipos da planta nativa *Lippia alba*: cânfora, cariofileno, carvona, cineol/cânfora e citral, contra diferentes espécies de bactérias e leveduras.

## METODOLOGIA

Para a determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) foram utilizadas 21 linhagens de bactérias e 9 de leveduras (Tabela 1), inoculadas em caldos de cultura adequados (LB para bactérias e YEPD para leveduras) e incubadas em condições apropriadas (Bactérias: 37 C por 24 horas; Leveduras: 30 C por 48 horas). Após o período de incubação, uma suspensão microbiana foi preparada em salina e ajustada ao tubo 0,5 da escala de McFarland (correspondente a  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL).

Para testes de CIM, uma emulsão de óleo essencial de *Lippia alba*, agente solubilizante DMSO e água destilada foi feita para cada quimiotipo. Os testes foram realizados em sistema de microdiluição seriada, a diluição do óleo essencial variou entre 0 e 10 mg/mL (testes realizados em triplicata). Cada diluição recebeu 5µL de inóculo, e uma coluna da placa foi utilizada como padrão negativo. As microplacas foram incubadas, respeitando a condição de cada microrganismo.

Os resultados foram analisados segundo os valores da densidade óptica, utilizando o comprimento de onda de 595nm, em leitor de ELISA. Para determinação dos CIMs, consideraram-se percentagens de inibição superiores a 90%.

Tabela 1 – Microrganismos utilizados

Bactérias Gram Negativas	Bactérias Gram Positivas	Leveduras
<i>Acinetobacter sp</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Candida guillermundii</i>
<i>Aeromonas sobria</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida pseudotropicalis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus sp</i>	<i>Candida sake</i>
<i>Klebsiella sp</i>	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Candida utilis</i>
<i>Proteus sp</i>	<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Pichia guillermundii</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae (AH22)</i>
<i>Pseudomonas sp</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Salmonella typhi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Schwannomyces castelli</i>
<i>Salmonella sp</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
<i>Shigella sp</i>		

## RESULTADOS

Tabela 2 – Resultados da ação inibitória de cada quimiotipo e os respectivos CIMs dos microrganismos

Cânfora (Figura 1)	CIM (mg/mL)	Citral (Figuras 5, 6 e 7)	CIM (mg/mL)
<i>Shigella sp</i>	10,0	<i>Candida albicans</i>	10,0
<i>Aeromonas sobria</i>	6,0	<i>Candida guillermundii</i>	4,2
<i>Aeromonas hydrophila</i>	10,0	<i>Candida sake</i>	8,7
<b>Cariofileno (Figura 2)</b>		<i>Pichia guillermundii</i>	9,7
<i>Bacillus subtilis</i>	1,0	<i>Saccharomyces cerevisiae (AH22)</i>	9,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	9,0	<i>Bacillus megaterium</i>	9,2
<i>Lactococcus lactis</i>	8,0	<i>Bacillus subtilis</i>	9,0
<i>Lactobacillus casei</i>	7,5	<i>Staphylococcus aureus</i>	8,5
<i>Shigella sp</i>	9,0	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,2
<i>Salmonella typhi</i>	5,3	<i>Lactococcus lactis</i>	7,5
<i>Escherichia coli</i>	4,3	<i>Lactobacillus casei</i>	8,5
<i>Aeromonas sobria</i>	3,7	<i>Lactobacillus helveticus</i>	5,5
<i>Aeromonas hydrophila</i>	4,3	<i>Shigella sp</i>	5,0
<b>Carvona (Figura 3)</b>		<i>Salmonella typhi</i>	9,7
<i>Candida guillermundii</i>	9,5	<i>Proteus sp</i>	10,0
<i>Candida utilis</i>	7,6	<i>Pseudomonas sp</i>	0,6
<b>Cineol/Cânfora (Figura 4)</b>		<i>Aeromonas sobria</i>	0,6
<i>Bacillus cereus</i>	9,2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	9,0
<i>Aeromonas hydrophila</i>	9,2		

Observação: Os microrganismos que não obtiveram percentagens de inibição do crescimento com a concentração máxima de óleo utilizada (10 mg/mL) não foram incluídos nesta tabela.

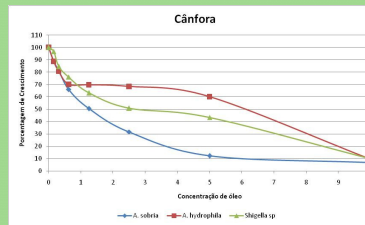


Figura 1 – Microrganismos inibidos pela presença do quimiotipo Cânfora

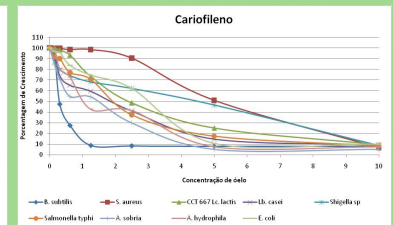


Figura 2 – Microrganismos inibidos pela presença do quimiotipo Cariofileno

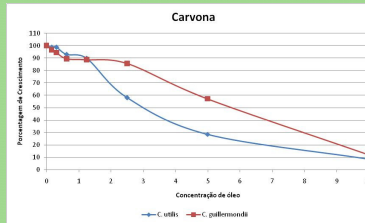


Figura 3 – Microrganismos inibidos pela presença do quimiotipo Carvona

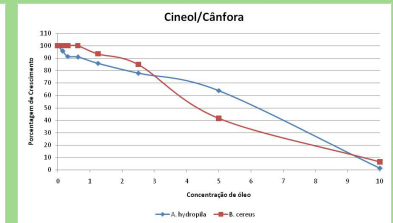


Figura 4 – Microrganismos inibidos pela presença do quimiotipo Cineol/Cânfora

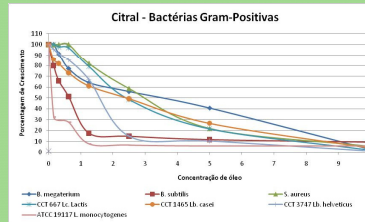


Figura 5 – Bactérias Gram-Positivas inibidas pela presença do quimiotipo Citral

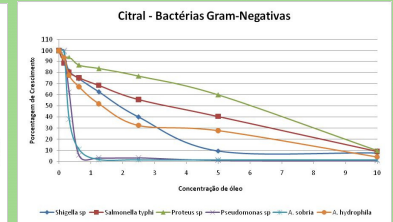


Figura 6 – Bactérias Gram-Negativas inibidas pela presença do quimiotipo Citral

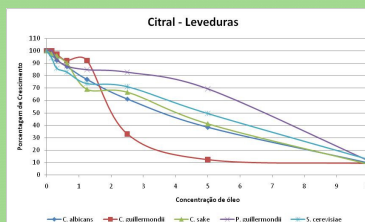


Figura 7 – Leveduras inibidas pela presença do quimiotipo Citral

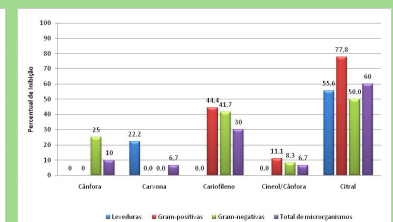


Figura 8 – Percentual de microrganismos inibidos em cada quimiotipo de *Lippia alba*

## DISCUSSÃO

Citral mostrou-se o quimiotipo mais eficiente quanto à inibição microbiana (Figura 8), sendo a sua capacidade microcida detectada sobre 55,6% das leveduras, 77,8% das bactérias Gram-positivas e 50% das bactérias Gram-negativas testadas. Este quimiotipo inibiu o crescimento de 60% do total de microrganismos utilizados.

Cariofileno apresentou a segunda maior porcentagem de inibição do total de microrganismos, 30% do total, sendo 44,4% das bactérias Gram-positivas e 41,7% das bactérias Gram-negativas. Porém não foi evidenciada inibição de leveduras.

O menor espectro de inibição foi verificado com os quimiotipos Cineol/Cânfora e Carvona, apenas 6,67% do total de microrganismos testados mostraram-se sensíveis a estes óleos.

Dentre os microrganismos utilizados, *A. sobria* e *A. hydrophila* foram os mais susceptíveis à ação inibitória dos óleos essenciais. A primeira bactéria mostrou-se sensível à 3 dos 5 quimiotipos e a segunda teve seu crescimento inibido por todos os óleos testados, com exceção do quimiotipo Carvona.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados mostram que o potencial de utilização de *L. alba* no controle microbiano depende do quimiotipo utilizado. Sem o conhecimento do composto majoritário do óleo essencial da planta (que determina o quimiotipo) não é possível afirmar sua ação microcida.

Enquanto os quimiotipos Carvona e Cineol/Cânfora não apresentaram ação microcida sobre a maioria dos microrganismos utilizados, o quimiotipo Citral foi o único a apresentar espectros de ação tanto para os dois tipos de bactérias quanto para leveduras. Tais resultados possibilitam uma possível comercialização específica de óleo essencial de *Lippia alba*, quimiotipo Citral, ao invés da venda generalizada.