



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Eugenia caryophyllata* E *Croton rhamnifolioides pax e hoffm*

Nathália Ventura de Almeida ITAPARICA¹ Sofia Suely Ferreira Brandão RODRIGUES² Eduardo José Alécio de OLIVEIRA²

¹Bolsista PIBIC Técnico do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, Av. Prof. Luiz Freire, 500, CDU, Recife PE, 50.740-540, e-mail: nathalia.ventura2@hotmail.com

²Professores do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco, Av. Prof. Luiz Freire, 500, CDU, Recife PE, 50.740-540, e-mail: sofiabrandaorodrigues@gmail.com e edualecifpe@gmail.com

Resumo: Óleos essenciais são misturas complexas de compostos orgânicos voláteis, lipofílicas e odoríferas que estão presentes nos vegetais como produto do seu metabolismo secundário. Especialmente nas últimas décadas se observa um grande interesse na busca por novos agentes antimicrobianos derivados de produtos naturais. Neste estudo foi avaliada a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllata* e *Croton rhamnifolioides pax e hoffm*, conhecidos também como cravo da índia e quebra faca respectivamente, perante as cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella enterica* spp NCTC 6017, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Candida albicans* ATCC 10231. O método aplicado foi o de difusão em disco, que tem como princípio básico, a difusão do agente antimicrobiano no ágar a partir de um disco impregnado com o produto. Foram utilizadas amostras dos óleos concentrados e suas diluições em Tween 80 e β -ciclodextrina e discos controle de ciprofloxacina 5 μ g, penicilina 10 μ g, eritromicina 15 μ g, fluconazol 25 μ g e anfotericina B 10 μ g. Todas as cepas apresentaram sensibilidade aos óleos testados em sua forma concentrada, exceto a *Salmonella enterica* spp frente ao óleo essencial de *Croton rhamnifolioides pax hoffm*. Conclui-se que os óleos essenciais de cravo da índia e quebra faca possuem uma atividade antimicrobiana considerável frente aos micro-organismos testados. O óleo de *Eugenia caryophyllata* apresentou melhores resultados comparado ao óleo de *Croton rhamnifolioides pax e hoffm*.

Palavras-chave: Atividade antimicrobiana, *Croton rhamnifolioides*, difusão em disco, *Eugenia caryophyllata*, óleos essenciais

1. INTRODUÇÃO

Óleos essenciais são misturas complexas de compostos orgânicos voláteis, lipofílicas e odoríferas, que apresentam inúmeros constituintes e podem ser extraídos dos vegetais de diversas formas. Nos últimos anos tem se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas, visando obter novos compostos com propriedades terapêuticas (FILHO & YUNES, 1997). Dentre as atividades farmacológicas, a antimicrobiana vem sendo estudada com mais intensidade devido ao agravamento da resistência microbiana a antibióticos convencionais. O interesse na busca por agentes antimicrobianos derivados de produtos naturais é justificável, uma vez que possuem uma diversidade molecular muito superior àquelas derivadas de produtos sintéticos (ANGÉLICO E.C., 2011). Muitas plantas já são conhecidas empiricamente pelas suas potencialidades, o que facilita a seleção das espécies a serem exploradas. Estudos envolvendo a ação antimicrobiana dos óleos essenciais podem ter vários interferentes, como a volatilidade do óleo, insolubilidade em água, dificuldade de difusão em ágar e complexidade química, por esses e vários outros fatores não é possível comparar diretamente resultados entre autores, visto que não existe uma padronização para a técnica a ser utilizada neste tipo de ensaio (NASCIMENTO *et al.*, 2007). *Croton rhamnifolioides pax e hoffm*, conhecida popularmente como quebra-faca, pertence à família *Euphorbiaceae*, é geralmente encontrada no Nordeste brasileiro, seu uso é indicado para o tratamento de úlceras e inflamações e tem como constituinte majoritário o eucaliptol (ANGÉLICO E.C., 2011). *Eugenia caryophyllata*, popularmente chamada de cravo da índia, pertence à família *Myrtaceae*, é comumente encontrada na



região sul da Bahia, possui propriedades analgésica e antisséptica, seu constituinte mais relevante é o eugenol (OLIVEIRA R.A. *et al.*, 2009). O objetivo deste estudo foi o de avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllata* e *Croton rhamnifolioides pax e hoffm* pelo método de difusão em disco frente a cepas controle de *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella enterica* spp NCTC 6017, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Candida albicans* ATCC 10231, representantes de espécies que têm papel em vários quadros infecciosos que afetam a saúde humana (ARAÚJO *et al.*, 2004; PEREIRA *et al.*, 2004).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os óleos essenciais de folhas de *Croton rhamnifolioides pax e hoffm* e botões florais de *Eugenia caryophyllata*, secos sob calor natural, foram extraídos por hidrodestilação tipo Clevenger modificado, que consistiu basicamente na destilação por arraste a vapor seguido da adição de sulfato de sódio anidro para a retirada do hidrolato.

As cepas utilizadas foram *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella enterica* spp NCTC 6017, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Candida albicans* ATCC 10231.

O método utilizado foi difusão em disco, de acordo com as normas do CLSI (2003 e 2005). Após a reativação das culturas microbianas por 24 horas em meio ágar Müller Hinton ou Sabouraud foram preparadas suspensões com cerca de 10^8 UFC/mL, de acordo com a escala 0,5 de McFarland. Em seguida, as suspensões foram adicionadas, com swab estéril, à superfície das placas contendo Ágar Muller Hinton (para bactérias) ou Ágar Sabouraud (para fungos). Os discos de papel de filtro estéreis de 6 mm foram impregnados com os óleos concentrados (100%) e suas diluições (10%, 1% e 0,1%) realizadas utilizando como emulgentes 10 µL de Tween 80 ou 0,011g de β-ciclodextrina. Os discos foram aplicados no ágar já inoculado e as placas incubadas a $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 18h. Após incubação, os halos de inibição foram medidos com um paquímetro. O controle negativo foi preparado com os emulgentes utilizados.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O óleo essencial de *Eugenia caryophyllata* apresentou melhores resultados comparado ao óleo de *Croton rhamnifolioides pax e hoffm*, o que pode ser observado nas Tabelas 1 e 2, isso não indica uma maior atividade antimicrobiana, pois este fato pode está associado a uma melhor difusão do óleo no ágar.

A atividade antimicrobiana dos óleos essenciais está relacionada com sua hidrofobicidade que os faz interagir com os lipídeos da parede, membrana celular e mitocôndria das células microbianas, alterando a permeabilidade e causando distúrbios nestas estruturas, resultando em fraturas grosseiras que provocam o vazamento de íons, moléculas e conteúdo celular, levando à morte ou inibição (BURT S., 2004).

Tabela 1 - Medida dos halos de inibição do óleo essencial de *Croton rhamnifolioides pax e hoffm*, dos discos controle e das diluições com o Tween 80 (T80) e β-ciclodextrina (CD)

Micro-organismos	Óleo essencial T80	Halo (mm)	Discos controle	Halo (mm)	Óleos essenciais CD	Halo (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	100 % ^a	11	Eritromicina 15µg	31	100%	12
	10%	0	Penicilina 10µg	42	10%	10
	1%	0	Controle negativo	0	1%	0
	0,1%	0			0,1%	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC	100 % ^a	9	Ciprofloxacina 5µg	37	100 %	b
	10%	0	Controle negativo	0	10%	b

8739	1%	0			1%	b
	0,1%	0			0,1%	b
<i>Salmonella enterica</i> spp NCTC 6017	100 % ^a	0	Ciprofloxacina 5µg	32	100 %	0
	10%	0	Controle negativo	0	10%	0
	1%	0			1%	0
	0,1%	0			0,1%	0
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	100 % ^a	13	Fluconazol 25µg	17	100% + CD	12
	10%	0	Anfotericina B 10µg	15	10%	0
	1%	0	Controle negativo	0	1%	0
	0,1%	0			0,1%	0

^a Óleo essencial puro, sem adição de Tween 80 ^b Ensaio descartado devido ao não crescimento da cultura

Os emulgentes foram utilizados para facilitar a difusão dos óleos. No caso da β -ciclodextrina foi mais difícil obter uma completa dissolução devido à substância se apresentar em forma de pó, e não ser totalmente solúvel em água e/ou no óleo à temperatura ambiente. Observou-se que a β -ciclodextrina praticamente não alterou a difusão do óleo essencial de *Croton rhamnifolioides pax e hoffm*, porém em relação ao óleo essencial de *Eugenia caryophyllata* provocou uma influência positiva frente à cepa de *Salmonella enterica* spp NCTC 6017, o que se pode concluir observando o aumento do halo de inibição do óleo concentrado e do óleo 10% em relação aos resultados da emulsificação com o Tween 80.

Os discos de controle positivo apresentaram halos de inibição dentro da faixa esperada. O controle negativo não exibiu halo de inibição, como esperado.

Tabela 2 - Medida dos halos de inibição do óleo essencial de *Eugenia caryophyllata*, dos discos controle e das diluições com o Tween 80 (T80) e β -ciclodextrina (CD)

Micro-organismos	Óleo essencial T80	Halo (mm)	Discos controle	Halo (mm)	Óleo essencial CD	Halo (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	100 %	16	Eritromicina 15µg	29	100% + CD	b
	10%	8	Penicilina 10µg	36	10%	10
	1%	0	Controle negativo	0	1%	0
	0,1%	0			0,1%	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	100 %	15	Ciprofloxacina 5µg	36	100 %	b
	10%	7	Controle negativo	0	10%	b
	1%	0			1%	b
	0,1%	0			0,1%	b
<i>Salmonella enterica</i> spp NCTC 6017	100 %	15	Ciprofloxacina 5µg	29	100 %	21
	10%	8	Controle negativo	0	10%	14
	1%	0			1%	0



	0,1%	0			0,1%	0
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	100 %	b	Fluconazol 25µg	b	100% + CD	30
	10%	b	Anfotericina B 10 µg	b	10%	12
	1%	b	Controle negativo	b	1%	0
	0,1%	b		b	0,1%	0

^a Óleo essencial puro, sem adição de Tween 80 ^b Ensaio descartado devido ao não crescimento da cultura ou do crescimento não uniforme

Os testes de avaliação antimicrobiana padronizados pelo CLSI foram desenvolvidos para analisar agentes antimicrobianos convencionais, como antibióticos. Desta forma, algumas modificações foram realizadas para poder se aplicar aos óleos essenciais, pois para a análise antimicrobiana com esses produtos ainda não foi desenvolvida uma padronização do método. Por isso, os resultados não podem ser diretamente comparados com o de outros autores, visto que seria necessária a equivalência de toda técnica executada detalhadamente.

Este estudo contribuiu para o conhecimento de resultados qualitativos referentes à ação antimicrobiana dos óleos essenciais de *Eugenia caryophyllata* e *Croton rhamnifolioides pax e hoffm* diante das cepas analisadas.

4. CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de *Eugenia caryophyllata* e *Croton rhamnifolioides pax e hoffm* apresentaram atividade antimicrobiana frente às cepas de *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella enterica* spp NCTC 6017, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Candida albicans* ATCC 10231, atividade que pode ser considerada relevante, visto que a maioria das medidas dos halos de inibição foi superior a 10 mm, valor considerado expressivo (LIMA *et al.*, 2006).

Ao comparar a atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Eugenia caryophyllata* e *Croton rhamnifolioides pax e hoffm*, foi observado que o de *Eugenia caryophyllata* apresentou melhores resultados utilizando tanto o Tween 80 como a β -ciclodextrina como emulgentes.

5. AGRADECIMENTO

Ao IFPE pelo financiamento da bolsa PIBIC-Técnico 2011/2012.

6. REFERÊNCIAS

ANGÉLICO, E. C. **Avaliação das atividades antibacteriana e antioxidante de *Croton heliotropiifolius* kunte e *Croton blanchetianus* Baill.** 2011. 87p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde Tecnologia Rural. Patos-PB. 2011.

ARAÚJO J. C. L.V., LIMA E. O., CEBALHOS B. S. O. *et al.* **Ação antimicrobiana de óleos essenciais sobre microrganismos potencialmente causadores de infecções oportunistas.** Revista de patologia tropical, v. 33, n. 1, p. 55-64, 2004.

BURT S. **Essential oils: their antibacterial properties and potencial applications in foods - a review.** International Journal of food microbiology 94, p. 223- 253, 2004.

CLSI. **Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada – Oitava Edição.** M2-A8, v. 23, n. 1, 2003.



CLSI. Normas de Desempenho para Testes de Sensibilidade antimicrobiana: 15º Suplemento Informativo. M100-S15, v. 25, n. 1, 2005.

FILHO, V. C.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. Química Nova. Santa Catarina, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

LIMA I. O. , OLIVEIRA R. A. G., LIMA E. O., et al. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*. Revista brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.16, n.2, p. 197-201, 2006.

NASCIMENTO P. F. C., NASCIMENTO A. C., RODRIGUES C. S., et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.17, n.1, 2007.

OLIVEIRA R. A., REIS T.V., SACRAMENTO C.K., et al. Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol. Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.19, n.3, p.771-775, 2009.

PEREIRA R. S., SUMITA T. C., FURLAN M. R. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. Revista saúde pública, v.38, n.2, p. 326-328, 2004.