

## AVALIAÇÃO ANTIBACTERIANA E ANTIFÚNGICA DO OLÉO ESSENCIAL DE QUATRO ESPÉCIES VEGETAIS

Mariana Felgueira Pavanelli<sup>1</sup>, Roberto Garcia<sup>2</sup>

### RESUMO

Desde os primórdios da civilização, a humanidade sempre utilizou de seus conhecimentos sobre as propriedades terapêuticas das plantas para obtenção da cura de suas enfermidades. Na era contemporânea o fenômeno da multirresistência dos micro-organismos e da iminente ineficácia dos medicamentos utilizados na terapêutica convencional, tem remetido os pesquisadores a buscar novas alternativas de terapias mais eficientes e com menos efeitos colaterais. Dessa forma, a presente pesquisa teve por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana de quatro espécies vegetais: gengibre (*Zinziber officinale*), araticum (*Annona crassiflora*), copaíba (*Copaífera langsdorffii*) e pariparoba (*Pothomorphe umbellata*) frente a diversos micro-organismos. Para avaliação da atividade antimicrobiana e antifúngica o método empregado foi de placa em Ágar com orifício. Dos óleos essenciais testados o único a apresentar atividade bactericida satisfatória foi o óleo essencial de copaíba. O óleo essencial de araticum apresentou atividade bacteriostática para os micro-organismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Nenhum óleo apresentou atividade antifúngica satisfatória. São necessárias novas pesquisas acerca dos componentes químicos destas e de outras plantas para que possam ser utilizados como protótipos ao desenvolvimento de novos fármacos capazes de substituir com eficácia e segurança os antimicrobianos disponíveis.

**Palavras-chave:** óleo essencial; *Annona crassiflora*; *Copaífera langsdorffii*; *Pothomorphe umbellata*; *Zinziber officinale*.

### EVALUATION OF ANTIBACTERIAL AND ANTIFUNGAL EFFECT OF ESSENTIAL OILS OF FOUR PLANT SPECIES

#### ABSTRACT

Since the dawn of civilization, mankind has always used their knowledge about the therapeutic properties of plants to obtain the cure of their infirmities. In the contemporary era, the phenomenon of multidrug-resistant micro-organisms and the imminent ineffectiveness of conventional drug therapies have motivated researchers to seek new alternatives for more effective treatments with fewer side effects. Thus the aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of four plant species: ginger (*Zinziber officinale*), araticum (*Annona crassiflora*), copal (*Copaífera langsdorffii*) and pariparoba (*Pothomorphe umbellata*) against various micro-organisms. To evaluate the antimicrobial and antifungal activity the method of agar plate with a hole was employed. Of the essential oils tested, only the oil of copaiba showed satisfactory bactericidal activity. The araticum essential oil showed bacteriostatic activity for *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa*. No oil showed satisfactory antifungal activity. More research is needed about the chemical components of these and other plants that may be used as prototypes for the development of new drugs that possibly will effectively and safely replace available antimicrobials.

**Keywords:** essential oils; *Annona crassiflora*; *Copaífera langsdorffii*; *Pothomorphe umbellata*; *Zinziber officinale*.

<sup>1</sup> Farmacêutica, Mestre em Ciências da Saúde. Docente do Curso de Farmácia da Faculdade Integrado de Campo Mourão.

<sup>2</sup> Farmacêutico. Faculdade Integrado de Campo Mourão.



## INTRODUÇÃO

A utilização de extratos vegetais na terapêutica de enfermidades é tão antiga quanto a própria humanidade (1). A atividade farmacológica dos extratos vegetais deve-se aos compostos bioativos produzidos pelo metabolismo secundário dos vegetais superiores, os quais são associados ao sistema de defesa da planta contra predadores e agentes infecciosos (2).

O processo enzimático responsável pela síntese dos compostos bioativos é altamente especializado e complexo, utiliza várias enzimas que possibilitam a biossíntese de metabólitos com atividade antimicrobiana, antifúngica e antiparasitária. Dessa forma, muitos dos princípios ativos utilizados farmacologicamente, são na verdade compostos tóxicos, cujas funções são de defesa contra a predação de determinados organismos (2).

Estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) apontam que de 65 a 80% da população dos países em desenvolvimento utilizam plantas medicinais para obter cuidados básicos com a saúde. Em substituição à terapêutica convencional, populações indígenas e de comunidades residentes em regiões de difícil acesso, utilizam de conhecimentos empíricos acerca das plantas regionais como forma de acesso aos cuidados básicos à saúde (3).

Nos últimos anos inúmeros estudos vêm sendo conduzidos em diversos países, inclusive no Brasil, para obter novos conhecimentos acerca das práticas medicinais tradicionais, além da sua segurança e eficácia (4). De acordo com Santos et al (5), o Brasil é o país com o maior potencial para pesquisas de novos medicamentos de origem vegetal, pois possui a maior biodiversidade do mundo.

Para Nascimento et al (4), as bactérias possuem a habilidade genética de transmitir e também adquirir mecanismos de resistência aos antimicrobianos, tal fato é motivo de preocupação para pacientes imuno comprometidos, como os transplantados e portadores do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), que podem se infectar com bactérias multirresistentes no ambiente hospitalar. Com o surgimento destas cepas microbianas a mortalidade por doenças infecciosas em clínicas e hospitais do Brasil e do mundo têm aumentado (4).

Os compostos químicos isolados de plantas medicinais, com raras exceções, apresentam estruturas químicas muito diferentes dos antibióticos isolados de micro-organismos, como por exemplo, as penicilinas produzidas pelos fungos do gênero *Penicillium* (6). Esses compostos têm atraído à atenção da indústria farmacêutica devido ao fenômeno da resistência dos micro-organismos à terapêutica convencional de agentes antimicrobianos semissintéticos (4).

As propriedades antimicrobianas dos óleos essenciais descritas pelos autores (1,2,4-7) devem-se aos seus compostos químicos como: os flavonoides, alcaloides, triterpenos, sesquiterpenos, taninos, lignanas, saponinas, glicolipídios, ácidos cumarínicos, fenilpropanoides entre outros. Estes compostos atuam na síntese enzimática e nas membranas celulares dos micro-organismos aumentando a sua permeabilidade, o que leva ao extravasamento do citosol e conseqüente morte do micro-organismo (7).

Dentre as plantas com potencial antimicrobiano destaca-se o gengibre (*Zingiber officinale*), pariparoba (*Pothomorphe umbellata*), araticum (*Annona crassiflora*) e copaíba (*Copaífera langsdorffii*). Do gengibre é extraído os óleos volátil gingerol e shogaol que agem nas membranas celulares (8).

Testes histoquímicos com a planta pariparoba (*Pothomorphe umbellata*) indicam a presença de flavonoides. Esses compostos têm a função de proteção contra raios ultravioleta, ação antibacteriana, antifúngica e anti-herbívoras (9).

O araticum (*Annona crassiflora*) trata-se de uma planta nutricional do qual seu fruto é consumido *in natura*, além de ser utilizado na indústria alimentícia para fabricação de geleias, doces, compotas e sorvetes (10).

A copaíba (*Copaífera langsdorffii*), por suas propriedades medicinais, era utilizada pelos índios para curar ferimentos após batalhas, além de ser aplicada no umbigo de recém-nascidos. Sua atividade antibacteriana e antifúngica é devida aos compostos sesquiterpenos presentes no óleo essencial que possuem ação comprovada (11).

Pesquisas acerca de novos ativos antimicrobianos oriundos de vegetais disponíveis em nosso país são de extrema relevância clínica

e ambiental. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de gengibre (*Zinziber officinale*), copaíba (*Copaífera langsdorffii*), araticum (*Annona crassiflora*) e pariparoba (*Pothomorphe umbellata*) frente à algumas bactérias e fungos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Matéria Vegetal

Os óleos essenciais utilizados foram gengibre (*Zinziber officinale*), araticum (*Annona crassiflora*), copaíba (*Copaífera langsdorffii*) e pariparoba (*Pothomorphe umbellata*) estes foram cedidos pelo Laboratório de Manipulação Farmacêutica da Faculdade Integrado de Campo Mourão - PR.

### Preparo dos Óleos

O método para a extração do óleo essencial de pariparoba (*Pothomorphe umbellata*) foi por hidrodestilação utilizando o aparelho de Clevenger modificado e aparelho de Soxhlet. Para a extração dos óleos essenciais de gengibre, araticum e copaíba, foi utilizado um extrator orgânico (acetona) em aparelho de Soxhlet por um período de oito horas. Tais processos promovem a extração máxima dos ativos do vegetal, entretanto, não foi possível estimar a concentração de cada óleo utilizado neste experimento.

### Avaliação da Atividade Antimicrobiana

Avaliou-se a atividade antimicrobiana contra os micro-organismos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes* e *Candida albicans*, estes foram fornecidos pelo Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Faculdade Integrado de Campo Mourão - PR.

O método utilizado para a avaliação da atividade antifúngica e antibacteriana foi o Método de Ágar com Orifício em Placa (MAPO) (12). Após a fase de solidificação do Ágar,

foram realizadas cavidades de 8 mm de diâmetro com auxílio de cânulas de vidro estéreis. Os orifícios foram lacrados a fim de evitar que os óleos testados fluíssem para a parte inferior da placa e se difundissem pela fibra do Ágar.

Com auxílio de alça de Drygalski, 100µL de cada suspensão de micro-organismo foi distribuído em placas contendo o Ágar Muller Hinton para crescimento de bactérias e Ágar Sabouraud para leveduras (13). De cada óleo essencial foram coletadas alíquotas de 100µL, e a partir destas preparadas diluições de 1:10 com polissorbato 80 (Tween 80, Merck). Posteriormente foram aplicados 20µL de cada óleo essencial a ser testado nos orifícios das placas. Cada placa teste foi comparada a um controle positivo, penicilina para bactérias e nistatina para leveduras. As amostras foram incubadas por 24 a 48 horas, em temperatura de 37°C ± 1°C para bactérias e de 25°C ± 1°C para leveduras. Os halos de inibição foram medidos com um paquímetro.

Como critério de resistência microbiana foi considerado halo inferior a 12 mm e foram considerados antimicrobianos aqueles óleos essenciais que formaram halo de inibição superior a 20 mm de diâmetro, de acordo com o Manual de Antibiograma da ANVISA (14). Nas placas onde houve formação de halo entre 12 e 20mm o óleo essencial foi considerado agente bacteriostático/fungistático (atividade intermediária) (13). Todos os testes foram realizados em duplicata.

## RESULTADOS

Diferentes micro-organismos foram testados frente à óleos essenciais de quatro espécies vegetais para estimativa das ações antimicrobianas dos respectivos óleos. A formação dos halos de inibição, em milímetro (mm), para cada óleo essencial e controle se encontra na Tabela 1.

**Tabela 1.** Diâmetro dos halos de inibição obtidos dos óleos testados e controle para cada micro-organismo.

Óleo essencial	<i>S.aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
Araticum	12mm (I)	-- (R)	15mm (I)	18mm (I)	10mm (I)	-- (R)
Copaíba	16mm (I)	-- (R)	25mm (S)	-- (R)	17mm (I)	12mm (I)
Gengibre	10mm (I)	-- (R)	-- (R)	-- (R)	15mm (I)	-- (R)
Pariparoba	10mm (I)	-- (R)	-- (R)	-- (R)	10mm (I)	-- (R)
Controle	30mm (S)	25mm (S)	25mm (S)	25mm (S)	25mm (S)	30mm (S)

S: sensível - formação de halo superior a 20 mm

R: resistente - ausência de formação de halo (--)

I: intermediário - formação de halo inferior a 20 mm - atividade bacteriostática



O óleo essencial de araticum (*Annona crassiflora*) não apresentou atividade antimicrobiana frente à *S. pyogenese*, *C. albicans*. Para *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* houve formação de halo de inibição (15 mm, 10 mm, 18 mm e 12 mm, respectivamente), porém este apresentou diâmetro inferior à 20 mm, sendo assim, o óleo essencial de araticum pode ser considerado um agente bacteriostático. Os resultados obtidos neste estudo corroboram com os resultados obtidos por Carrazza et al (15), onde as amostras de óleo essencial de araticum não apresentaram atividade antimicrobiana frente à *E. coli*, *E. faecalis* e *S. aureus*, mesmo nas quantidades de 100, 500 e 1000µL.

O óleo essencial de Copaíba (*Copaífera langsdorffi*) apresentou atividade antibacteriana para *Escherichia coli* com diâmetro do halo de inibição igual ao do controle (25mm), podendo ser considerado um antimicrobiano eficaz. Para os micro-organismos *S. aureus*, *B. subtilis* e *C. albicans* este óleo apresentou atividade bacteriostática e fungistática, devido a formação de halos de inibição de 16 mm, 17 mm e 12 mm, respectivamente. O óleo de copaíba não teve nenhuma atividade frente aos micro-organismos *S. pyogenese* e *P. aeruginosa*, sendo estes considerados resistentes ao óleo essencial referido. Os resultados obtidos foram, em parte, similares aos obtidos por Mendonça e Onofre (16), no qual o óleo essencial de copaíba foi capaz de inibir o crescimento microbiano de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.

A atividade do óleo essencial de pariparoba (*Pothomorphe umbellata*) se limitou apenas a efeito bacteriostático, apresentando halos de inibição inferiores a 20 mm para os micro-organismos *S. aureus* e *B. subtilis* (10 mm). Pessini et al. (17) relataram intenso efeito antimicrobiano de *Pothomorphe umbellata* sobre *Staphylococcus aureus* e *Bacillus subtilis*, efeito moderado para *Pseudomonas aeruginosa* e fraco para *Escherichia coli*. Diferente do obtido neste estudo, os autores também identificaram ação antifúngica para este vegetal, entretanto, utilizaram extrato da planta e não óleo essencial, da mesma forma como Lemos et al (18). Outros estudos (19,20) detectaram que o

extrato das folhas da pariparoba também apresenta atividade antileishmania.

O óleo essencial de gengibre (*Zinziber officinale*) teve ausência de formação de halos de inibição frente às bactérias *S. pyogenese*, *E. coli*, e *P. aeruginosa*, e à levedura *C. albicans*, sendo assim resistentes ao óleo testado. Porém, este óleo apresentou pequena atividade bacteriostática frente ao micro-organismo *S. aureus* formando halo de inibição de 10 mm, e para a bactéria *B. subtilis* houve formação de halo de inibição de 15 mm.

Os resultados observados neste estudo estão de acordo com os obtidos por Bauer et al (21) onde não foram observadas formações de halos de inibição nas amostras de óleo essencial de gengibre frente aos micro-organismos *S. pyogenese*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *C. albicans*. Porém, o estudo realizado por Gregio et al (22) demonstrou que o óleo essencial de gengibre, na concentração de 5mg/mL, inibiu o crescimento de cepas de *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans*.

Os resultados sugerem que é possível extrair compostos com ação antimicrobiana de vegetais disponíveis em nosso país, entretanto, devem ser investigadas formas de extração mais eficazes para maximizar o aproveitamento dos compostos alvo.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os óleos essenciais utilizados no presente trabalho apresentaram limitada atividade antimicrobiana, destacando-se o óleo de copaíba que apresentou atividade antibacteriana satisfatória frente à cepa de *Escherichia coli* testada. São necessárias novas e amplas pesquisas acerca destas e de outras plantas medicinais de uso popular, cujos componentes químicos possam apresentar propriedades terapêuticas, para serem utilizados como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos antimicrobianos que possam substituir com eficácia e segurança os atuais agentes terapêuticos disponíveis.

Mariana Felgueira Pavanelli<sup>1</sup>, Roberto Garcia<sup>2</sup>.

Endereço para correspondência: Faculdade Integrado de Campo Mourão, Rodovia BR 158, Km 207, Campo Mourão - PR  
87300-970  
E-mail: pavanelli.mari@gmail.com

Recebido em 03/07/2012

Revisado em 26/06/2013

Aceito em 14/10/2013

## REFERÊNCIAS

- (1) MACIEL, M. A.; PINTO, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, n.3, p.429-38, 2002.
- (2) SILVA, M. T. N.; USHIMARU, P. I.; CUNHA, M. L. R. S; et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas frente a linhagens de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* isoladas de casos clínicos humanos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.11, n. 3, p. 257-262, 2009.
- (3) CALIXTO, J. B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America. A personal view. **Journal of the Ethnopharmacology**, v.100, p.131-134, 2005.
- (4) NASCIMENTO, G. G. F.; LOCATELLI, J.; FREITAS, P. C; et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbioloy**, v.31, n. 4, p.247-256. 2000.
- (5) SANTOS, V. L.; SOUZA, M. F. V.; BATISTA, L. M.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, v.13, n 1, p.68-72, 2011.
- (6) FERRONATTO, R.; MARCHESAN, E. D.; PEZENTI, E.; et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Bacchari suncinella* DC. (Asteraceae). **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.17. p.76-84, 2007.
- (7) GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 3, p. 353-358, 2005.
- (8) RUFF, M. L.; MCCCLANABAN, S. B.; BABEL, B. S. In vitro antifungal efficacy of four irrigants as a final rinse. **Journal of Endodontology**, n.34, p. 331-333, 2006.
- (9) POURCEL L.; ROUTABOUL J.; SHEYNIER V.; et al. Flavonoid oxidation in plants: from biochemical properties to physiological functions. **Trends in Plant Science**, v.12, p. 29-36, 2006.
- (10) ALMEIDA, S. P. Frutas nativas do cerrado: caracterização físico-química e fonte potencial de nutrientes. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. (ed.) **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC. 1998. p. 247-281.
- (11) OLIVEIRA, E. C. P.; LAMEIRA, O. A.; ZOGHBI, M. G. B. Identificação da época de coleta do óleo-resina de copaíba (*Copaifera* spp.) no município de Moju-PA. **Revista Brasileira de Plantas medicinais**, v.8, n.3, p.14-23, 2006.
- (12) FIOCRUZ. INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE (INCQS). **Manual de Saneantes**, Rio de Janeiro, 1992.
- (13) PACKER J. F.; LUZ M. M. S. Método para avaliação e pesquisa da atividade antimicrobiana de produtos de origem



natural. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v.17, p.102-107, 2007.

(14) Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção em serviços de saúde. Disponível em: <[www.bvms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_microbiologia\\_completo.pdf](http://www.bvms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_microbiologia_completo.pdf)>. Acesso em: 25 jun. 2012.

(15) CARRAZZA, T. G.; CANABRAVA, H. A. N.; CARRAZZA, L. G.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos do Araticum (*Annona crassiflora*). **PUBVET**, Londrina, v. 5, n.14, 2011.

(16) MENDONÇA, D. E.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana-resina produzido pela copaíba – *copaifera multijuga* Hayne. **Brazilian Journal of Farmacognosy**, v. 19, p.577-581, 2009.

(17) PESSINI, G. L.; HOLETZ, F. B.; SANCHES, N. R.; et al. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.13, n.1, p.21-24, 2003.

(18) LEMOS, C. O. T.; GARCIA, V. A. S.; SANTOS, E. M.; et al. Atividade Antifúngica de Extratos Naturais Obtidos por Tecnologia Supercrítica. In: VII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar, Maringá. **Anais Eletrônico do VII EPCC –**

**Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar**. Maringá: CESUMAR, 2011.

(19) NAKAMURA, C. V.; SANTOS, A. O.; VENDRAMETTO, M. C.; et al. Atividade antileishmania do extrato hidroalcoólico e de frações obtidas de folhas de *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) Yunck. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.1, João Pessoa, Jan./Mar. 2006.

(20) FERREIRA-DA-CRUZA, M. D. F.; ADAMIA, Y. L.; ESPINOLA-MENDESA, E. D. C.; et al. The Intraperitoneal Plasmodium berghei-Pasteur Infection of Swiss Mice Is Not a System That Is Able to Detect the Antiplasmodial Activity in the Pothomorphe Plant Extracts That Are Used as Antimalarials in Brazilian Endemic Areas. **Experimental Parasitology**, v.94, n.4, p.243-247, April 2000.

(21) BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C. Antiotic susceptibility festing by a standardized single disc method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p. 493-496, 2004.

(22) GREGIO, A. M. T.; FORTES, E. S.; ROSA, E. A. R.; et al. Ação antimicrobiana do *Zinziber officinale* frente à microbiota bucal. **Revista Estudos de Biologia**, v. 228, n. 62, p. 61-66, jan./mar. 2006.