

A COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS BRASILEIRAS

Giovana Beatriz Pettenazzi¹; Karine Zanoli Bernucç²; Rogério Minini dos Santos³

¹Acadêmica do Curso de Farmácia, Maringá-PR - UNICESUMAR. gifarmacia22@gmail.com

²Coorientadora, doutora, Docente Maringá-PR – UNICESUMAR. karine.zanoli@unicesumar.edu.br

³Orientador, doutor, Docente Maringá-PR – UNICESUMAR. rogerio.santos@unicesumar.edu.br

RESUMO

A busca por atividade farmacológica em óleos essenciais representa o conhecimento de patrimônios terapêuticos naturais presente na flora brasileira. Eles demandam grande espaço nas indústrias farmacêuticas, alimentícias e de cosméticos, devido a possibilidade de compostos com propriedades medicinais, aromáticas, antioxidantes e de proteção quanto a deterioração por microrganismos. Sendo assim, o objetivo desse estudo é determinar a atividade antioxidante e antimicrobiana de óleos essenciais. A avaliação qualitativa dos componentes químicos das amostras acontecerá por meio de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas equipado com coluna capilar. Como também, a atividade antimicrobiana que será realizada através de ensaios in vitro das bactérias: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella Cholerasuis*, para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM). Por último, a atividade antioxidante, executado pelo teste de sequestro de radicais DPPH. Os óleos essenciais serão fornecidos pelo professor Dr. Cícero Deschamps do Departamento de Fitotecnia e Fitossanidade de UFPR de Curitiba-PR. Como resultado, espera-se que os óleos essenciais estudados apresentem concentrações satisfatórias para fomentar possibilidades terapêuticas e tecnológicas para a indústria de medicamentos e cosméticos, nessa perspectiva, garantir uma alternativa de tratamento saudável em que melhore a qualidade de vida dos indivíduos.

PALAVRAS-CHAVE: Óleo essencial; antimicrobiana; antioxidante.

1 INTRODUÇÃO

Óleos essenciais são compostos voláteis aromáticos contidos em vários órgãos vegetais, sendo associados ao metabolismo secundário, as quais as plantas produzem mediante necessidades não nutricionais, com fins de sobrevivência no seu ecossistema fornecendo proteção contra micro-organismos e predadores (SIANI et al.,2013).

Quimicamente, são constituídos de compostos terpênicos e eventualmente de fenilpropanoides, além de grupos álcoois, ésteres, aldeídos e cetonas (SIMÕES et al., 2010).

Existem diferentes métodos para realizar a extração de óleos essenciais. Para a escolha da metodologia deve-se avaliar a eficiência, a estabilidade das substâncias a serem extraídas e o custo do processo. O tempo varia dependendo do tamanho do material colhido, da natureza química das substâncias, do solvente, e da utilização ou não de temperatura e agitação (SIMÕES, et al.,2010).

A análise cromatográfica gasosa (CG) é uma técnica que permite separar e identificar componentes que seria quase impossível de serem definidas pelos métodos convencionais (CIENFUEGOS, et al.,2000). A combinação da cromatografia de gás com espectrometria de massa (CG/MS) torna essa análise qualitativa ainda mais eficaz, sendo muito utilizados para identificar amostras naturais e biológicas (SKOOG, et al.,2015).

De acordo com Bandoni (2008), “a cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa permite realizar em uma só operação, para uma amostra da ordem 1µL, uma análise qualitativa junto com uma indicação das proporções em que se encontram os componentes. Quando se dispõe de substância padrão, a calibração do equipamento permite uma análise quantitativa exata da amostra”.

Os óleos essenciais possuem importantes aditivos para a indústria cosmética, farmacêutica e alimentícia. Principalmente devido ao seu aroma, são amplamente empregados para perfumar xampus, sabonetes, cremes, entre outros (ANDRADE, 2014).

A utilização de óleos essenciais no controle do crescimento microbiano tem sido frequentemente relatada. Trabalhos com óleos essenciais têm indicado o seu potencial no controle de bactérias (SILVA et al., 2010; DEMUNER et al., 2011; NASCIMENTO et al., 2011) e de fungos fitopatogênicos.

Segundo Andrade et al. (2012), substâncias antioxidantes inibem ou diminuem os efeitos desencadeados pelos radicais livres e compostos oxidantes em substratos oxidáveis. No organismo humano, a atividade metabólica produz radicais livres que podem causar danos celulares quando produzidos em excesso, causando um estresse oxidativo. Todos os componentes celulares são susceptíveis a ação dessas espécies reativas de oxigênio, porém a membrana plasmática é a mais atingida pela peroxidação lipídica (BARREIROS; DAVID; 2006).

Na indústria de alimentos, os antioxidantes sintéticos mais utilizados são o butil-hidroxi-anisol (BHA), 2,6-di-tert-butil-4-hidroxitolueno (BHT), e tert-butil-hidroquinona (TBHQ). Entretanto, estudos referentes a toxicologia desses compostos têm evidenciado sua possível atividade carcinogênica em animais. Diante disso, muitos compostos produzidos a partir de plantas têm sido pesquisados a fim da utilização do seu potencial antioxidante, que permitirão a substituição dos antioxidantes sintéticos ou então a sua associação, visando diminuir sua quantidade nos alimentos (ANDRADE, 2012).

Desta forma, com essa pesquisa, pretende-se denotar alguns óleos essenciais de acordo com a quantificação de fenilpropanóides e terpenóides, em momento posterior, avaliar atividades antimicrobiana e antioxidante das amostras.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

As identificações dos componentes químicos dos óleos essenciais serão realizadas por cromatografia gasosa (Agilent, 7890 B) acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) (Agilent 5977A MSD) equipado com uma coluna capilar HP-5 MS UI Agilent (30 m x 0,250 mm x 0,25 µm). Para realização das análises, os óleos essenciais serão diluídos à 5% em diclorometano e 1 µL desta solução injetados nas seguintes condições: temperatura do injetor 220 °C com razão de injeção no modo split 1:20, temperatura inicial da coluna de 60 °C com gradiente de 2°C/min até 180 °C, seguido de um gradiente de 10 °C/min até 220 °C, e mais um gradiente de 40 °C/min até 300 °C. A linha de transferência foi mantida a 250 °C e a fonte de ionização e quadrupolo, 230 °C e 150 °C, respectivamente. O gás He será utilizado como gás de arraste com fluxo de 1mL/min, o modo de operação foi impacto de elétron a 70 eV, o sistema de detecção foi o EM no modo “Scan”, na faixa de razão massa/carga (m/z) de 40 - 450, com “Solvent Delay” de 3 min. A identificação dos compostos será realizada principalmente comparando os espectros de massas dos compostos com os espectros de massas da biblioteca NIST 11.0. As identificações serão confirmadas por comparação do padrão de fragmentação e seus índices de retenção de Kovats obtidos usando uma série homóloga do padrão de n-alcenos (C7-C30) (ADAMS, 2012).

CÁLCULO DO ÍNDICE DE RETENÇÃO RELATIVO (IRR)

Será injetado 1,0µL de uma série de 23 hidrocarbonetos (C7 a C30), na mesma programação do óleo essencial. O Índice de Retenção Relativo das substâncias dos óleos essenciais serão obtidos através do cálculo do índice de retenção relativo.

Onde:

$$IRR = \left[\frac{\text{Log TR}_{\text{subst}} - \text{Log TR}_n}{\text{Log TR}_{(n+1)} - \text{Log TR}_n} + N \right] \times 100$$

IRR= índice de Retenção Relativo.

Log TR subst = Tempo de Retenção corrigido da amostra.

Log TR n = Tempo de Retenção corrigido do n-alcano imediatamente inferior ao tempo de retenção da amostra.

Log TR (n + 1) = Tempo de retenção corrigido do n-alcano imediatamente superior ao tempo de retenção da amostra.

N= número de carbono n-alcano imediatamente inferior ao tempo de retenção da amostra.

Para realização da atividade antimicrobiana, será empregada metodologia segundo Andrade et al. (2012): as bactérias utilizadas serão *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella Cholerasuis*. Estas serão repicadas em caldo BHI, e incubadas a 37 °C por 24 horas. Posteriormente, alíquotas desse meio serão transferidas para um tubo com 5 mL de caldo de soja triptica (TSB). Os tubos serão incubados a 37 °C até alcançar a turbidez de uma solução padrão McFarland de 0,5, resultando numa suspensão contendo 10⁸ UFC mL⁻¹. A concentração de inóculo obtida pela escala McFarland de 0,5 (10⁸ UFC mL⁻¹) será diluída até atingir a concentração de 10⁶ UFC mL⁻¹, sendo esta transferida para o Ágar Mueller Hinton. Neste ágar serão feitos os poços de deposição do óleo com o auxílio de pérolas de vidro. Estes serão preenchidos com 10 µL das concentrações (500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,62; 7,81; 3,90, 1,95 e 0 µg mL⁻¹) do óleo essencial diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO). As placas serão incubadas em BOD 37 °C por 24 horas e medidos os diâmetros dos halos de inibição formados. Serão realizadas três repetições para cada tratamento, com uma prova em branco com a aplicação de 10 µL de DMSO, e como controle positivo uma solução de 100 µg mL⁻¹ do antibiótico Cloranfenicol.

Para a realização da atividade antioxidante o teste empregado será DPPH. Este, será realizado como descrito por (CUENDET et al., 1997; KIRBY e SCHMIDT, 1997). 50 mL de várias diluições do óleo essencial e seus principais compostos ativos serão misturados com 5 mL de uma solução de metanol a 0,004% de DPPH. Após um período de incubação de 30 minutos, a absorbância das amostras será lida a 517 nm usando um espectrofotômetro. Butil-hidroxi-tolueno (BHT), quercetina e ácido ascórbico serão usados como controles positivos.

3 RESULTADOS ESPERADOS

Espera-se que os óleos essenciais apresentem atividade antimicrobiana e antioxidante satisfatórias. Socialmente, espera-se contribuir para formação adequada de recursos humanos numa área da saúde, colaborando com a melhoria da qualidade de vida e do meio ambiente e que possa promover Programas Educativos e Preventivos visando um ambiente mais saudável. Economicamente, este trabalho pretende apresentar uma nova possibilidade terapêutica e tecnológica, tanto para indústria de medicamentos, quanto

a de cosméticos. Relacionado a aspectos ambientais, será possível o conhecimento dos recursos terapêuticos disponíveis na flora brasileira. Por último, cientificamente, espera-se contribuir na formação de recursos humanos: iniciação científica, na publicação de artigos em periódicos especializados e na divulgação dos resultados em Congressos e Reuniões Científicas.

REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**. 4.ed. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2012. 804p.

ANDRADE, A.M.; SANTOS, M.S.; ANDRADE, M.R.; ANDRADE, R.S.G.; JÚNIOR, C.G.S.; **Mapeamento Tecnológico da utilização de óleos essenciais para a produção de cosméticos**. Cad. Prospec., Salvador, v.7, n.3, p.416-420, jul./set. 2014.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; **Estresse Oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo**. Quim.Nova, vol.29, n.1, p.113-123, 2006.

CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. **Análise Instrumental**. Rio de Janeiro: Editora Interciência Ltda, 2000, p.222.

CUENDET, M.; HOSTETTMANN, K., POTTERAT, O. **Iridoid glucosides with free radical scavenging properties from *Fagraea blumei***. Helv. Chim. Acta, v. 80, p. 1144-1152, 1997.

SÁ, J.P.N.; NETO, O.L.S.; SANTOS, C.L.A.; GADELHA, H.S.; ALENCAR, M.C.B.; ROBERTO, S.B.A.; **A utilização de óleos essenciais na indústria de alimentos**. Revista Brasileira de Gestão Ambiental, v.12, n.2, p.01-06, abr.-jun., 2018.

SANTANA, C.B.; SOUZA, J.G.L.; CORACINI, M.D.A.; WALERIUS, A.H.; SOARES, V.D.; COSTA, W.F.; PINTO, F.G. S.; **Chemical Composition of Essential Oil from *Myrcia oblongata* and Potencial Antimicrobial, Antioxidant and Acaricidal Activity Against *Dermanyssus gallinae***. Uberlândia, v.34, n.4, p.996-1009, July/August 2018.

SIANI, A.C.; SAMPAIO, A.L.F.; SOUSA, M.C.; HENRIQUES, M.G.M.O.; RAMOS, M. F.S.; **Óleos essenciais**. Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento, RJ – p. 38-42.

SILVA, C.J.; BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A.J.; PINHEIRO, A.L.; DIAS, I.; ANDRADE, N.J. **Chemical composition and antibacterial activities from the essential oil of myrtacea espécies planted in Brazil**. Química Nova, v.33, p.104-108, 2010.

SIMÕES, C.M.O.; SCBENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R.; **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Brasil, Editora UFSC, 6 ed. 2010, p.233; 472-473.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 9ª ed. São Paulo : Editora Cengage Learning, 2015, p.887