



SEI-SICITE 2021

Pesquisa e Extensão para um mundo em transformação

Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Myrcianthes gigantea* (D. Legrand) D. Legrand e *Eugenia uniflora* L.

Antimicrobial activity of essential oils from Myrcianthes gigantea (D. Legrand) D. Legrand and Eugenia uniflora L.

Mariana Soares Rodrigues*, Fábio Antônio Antonelo[†],
Paula Fernandes Montanher[‡]

RESUMO

Óleos essenciais (OEs) têm instigado grande interesse por suas propriedades funcionais principalmente pela ação antimicrobiana. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antimicrobiana do araçá-do-mato (*Myrcianthes gigantea*) e comparar com o da pitangueira (*Eugenia uniflora*) obtido comercialmente por sua atividade conhecida. O OE de *M. gigantea* foi obtido por hidrodestilação em um aparato de Clevenger adaptado por 3 horas, sendo o OE de *E. uniflora* obtido comercialmente. O método de microdiluição em caldo foi usado para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) para bactérias Gram positivas e negativas. Os resultados obtidos demonstram que ambos os OEs possuem atividade antimicrobiana contra todos as bactérias testadas. Com destaque para *M. gigantea*, que apresentou uma CIM de 0,78 mg/mL para *Bacillus cereus* e *Enterococcus faesium* enquanto a *E. uniflora* com uma CIM de 1,56 e 3,13 mg/mL respectivamente. Além disso, para as bactérias *Escherichia coli* e *Salmonella enterica* Thyphymurium o OE de *M. gigantea* apresentou CIM de 0,20 mg/mL para ambas as espécies e o OE de *E. uniflora* uma CIM de 0,78 mg/mL. É evidente que o OE de *M. gigantea* possui maior atividade antimicrobiana do que OE de *E. uniflora* sendo uma fonte promissora de compostos bioativos.

Palavras-chave: Óleo essencial, antimicrobianos, produtos naturais, Myrtaceae.

ABSTRACT

Essential oils (EOs) have instigated great interest for their functional properties, mainly due to their antimicrobial action. The objective of this study was to evaluate the antimicrobial activity of the Araçá-do-mato (*Myrcianthes gigantea*) and compare it with pitangueira (*Eugenia uniflora*) commercially obtained for its known activity. The EO of *M. gigantea* was obtained by hydrodistillation in a Clevenger apparatus adapted for 3 hours, the EO of *E. uniflora* being commercially obtained. The broth microdilution method was used to determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) for Gram positive and negative bacteria. The results obtained demonstrate that both EOs have antimicrobial activity against all tested bacteria. In particular, *M. gigantea* presented a MIC of 0.78 mg/mL for *Bacillus cereus* and *Enterococcus faesium*, while *E. uniflora* had a MIC of 1.56 and 3.13 mg/mL, respectively. Furthermore, for the bacteria *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* Thyphymurium, the EO of *M. gigantea* presented a MIC of 0.20 mg/mL for both species and the EO of *E. uniflora* a MIC of 0.78 mg/mL. It is evident that the EO from *M. gigantea* has greater antimicrobial activity than the EO from *E. uniflora*, being a promising source of bioactive compounds.

Keywords: Essential oil, antimicrobials, natural products, Myrtaceae.

* Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; mariisoares25@yahoo.com.br

[†] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Dois Vizinhos; fabioantonelo.33@gmail.com

[‡] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil; paulamontanher@utfpr.edu.br



1 INTRODUÇÃO

Uma das maiores ameaças à saúde pública é a resistência antimicrobiana, um fenômeno que ocorre quando bactérias sofrem mutações genéticas e conseguem resistir ao tratamento mesmo com a utilização de grande quantidade de antibióticos. Em 2015 a *World Health Organization* (Organização Mundial de Saúde - OMS) publicou um plano de ação global sobre resistência antimicrobiana com a finalidade de garantir a continuidade de um tratamento bem sucedido pelo maior tempo possível, prevenir doenças infecciosas com medicamentos eficazes, de qualidade e acima de tudo seguros.

Por conseguinte, em 2019 a OMS publicou uma lista de antimicrobianos de importância crítica para a medicina humana, que foi dividida em três categorias conforme a urgência da necessidade de novos antibióticos: crítica, alta e média, em prioridade crítica foi destacado para os seguintes agentes microbianos *Acinetobacter*, *Pseudomonas* e várias *Enterobacteriaceae* (incluindo *Klebsiella*, *E. coli*, *Serratia* e *Proteus*), em prioridade alta tem *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter spp.*, *Salmonellae*, *Neisseria gonorrhoeae* e com prioridade média *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Shigella spp.*

Diante dos fatos supracitados, os OEs estão cada vez mais sendo estudados como alternativa, pois são misturas que possuem propriedades terapêuticas, visto que são extraídos princípios bioativos de plantas com potencial farmacológico (NASCIMENTO; PRADE, 2020). Há vários métodos para extração de OEs, dentre eles o arraste por vapor d'água empregado para se obter OE de plantas frescas, além disso a extração por solvente apolar sendo uma técnica pouco utilizada, ademais a extração por dióxido de carbono supercrítico próprio para recuperar aromas e OE sendo muito utilizado industrialmente, por fim, a hidrodestilação um método simples e versátil sendo muito utilizada em laboratórios por evitar a perda de compostos sensíveis a altas temperaturas (SILVA, 2018).

No Brasil em termos de biodiversidade vegetal, a Mata Atlântica é um dos principais ecossistemas reconhecidos no mundo, entre os grupos de plantas destaca-se a família Myrtaceae, que possui 29 gêneros e cerca de 1.193 espécies dados da Flora do Brasil 2020 (PROENÇA et al., 2020). Alguns OEs dessa família tem sido muito estudados, por exemplo, estudo feito por Souza et al. (2021) constatou atividade antimicrobiana para *Staphylococcus aureus*, para o OE das folhas de *Eugenia pyriformis*. Ademais, em estudo feito por Montalvan et al. (2019) apresentou que OE de *Myrcianthes myrsinoides* possui atividade inibitória para as enzimas colinesterase, esta atividade é de interesse para o tratamento da doença de Alzheimer. Em outro estudo feito por Santos et al. (2021), em que se analisou o OE de *Myrcia palustris* e a atividade antimicrobiana foi observada para as bactérias *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus* e *Shigella flexneri*.

São notórias as propriedades presentes em várias espécies da família Myrtaceae, em contrapartida temos *Myrcianthes gigantea* (D. Legrand) D. Legrand, comumente conhecida como araçá-do-mato, que pode atingir uma altura de 20 m, de acordo com Romagnolo e Souza (2004), é nativa de região neotropical, caracterizada por arbustos a árvores, apresentar folhas simples, opostas ou ternadas, pecioladas, contudo pouco se sabe sobre o potencial antimicrobiano do OE dessa espécie, tendo em vista o aumento da resistência antimicrobiana, os OEs da família Myrtaceae possuem atividade antimicrobiana frente a *B. cereus*, *E. faecium*, *E. coli*, *S. enterica* *Thyphimurium*? Nesse viés, esse trabalho objetivou avaliar atividade antimicrobiana do OE de *M. gigantea* e *Eugenia uniflora* L., um OE já reconhecido pela sua atividade antimicrobiana.



2 MÉTODO

O trabalho foi realizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná, no câmpus Dois Vizinhos, a análise antimicrobiana ocorreu no laboratório de Microbiologia.

2.1 Coleta da amostra vegetal e extração do OE

As folhas de *M. gigantea* (Figura 1) foram coletadas em Dois Vizinhos – PR, em agosto de 2020, sendo o material vegetal herborizado, seco e identificado pelo Biólogo Fábio Antônio Antonelo, em sequência o material foi depositado no Herbário DVPR sob número de depósito 7014, seguindo a metodologia descrita por Peixoto e Maia (2013).

Com as folhas de *M. gigantea* ainda frescas, foram pesadas e na sequência submetidas a hidrodestilação em um Clevenger modificado por um período de 3 horas, usando água destilada na proporção de 1:10 (m/v) como solvente. Posteriormente o OE obtido foi armazenado em tubo falcon sob abrigo da luz e com refrigeração a 4 °C até a análise antimicrobiana. O OE da *E. uniflora* utilizado como referência foi obtido comercialmente para comparação da atividade antimicrobiana.

Figura 1 - Folhas de *Myrcianthes gigantea* (D. Legrand) D. Legrand (Araçá-do-mato)



Fonte: Fábio Antônio Antonelo (2019).

2.2 Agentes microbianos

Os microrganismos utilizados foram duas bactérias Gram positivas *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Enterococcus faesium* ATCC 19433, e duas bactérias Gram negativas *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Salmonella enterica* Thyphimurium ATCC 0028.

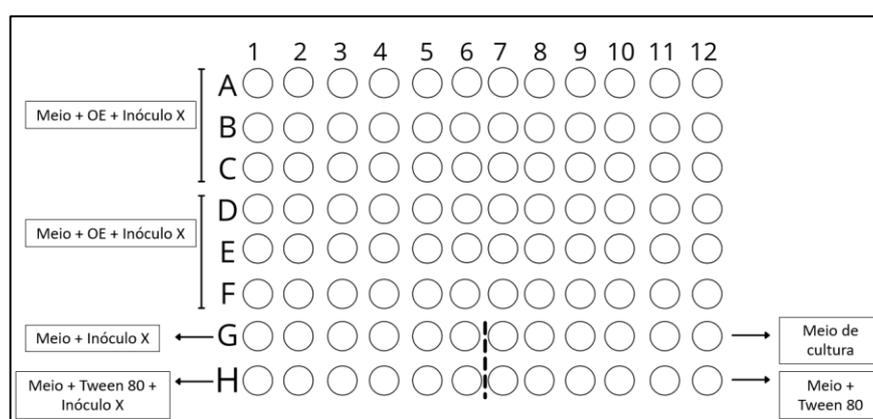
2.3 Determinação da concentração inibitória mínima

A técnica utilizada foi microdiluição em placa de 96 poços, de acordo com a padronização da norma M7-A6 do CLSI (2003) (*Methodology for Agent Sensitivity Tests Antimicrobials by Dilution for Bacteria Aerobic Growth*), com adaptações. Primeiramente as cepas foram inoculadas em ágar Muller Hinton (MH) por 24 horas a 37 °C, na sequência foi feito um inóculo a partir de colônias isoladas em água salina (0,8%), sendo ajustado em espectrofotômetro a 625 nm, de acordo com a escala de 0,5 McFarland (1×10^8 UFC/mL).

Posteriormente, preparou-se uma solução antimicrobiana do OE de *M. gigantea* e *E. uniflora*, com Tween 80 a (1%) e caldo MH com concentrações variando de 50 a 0,02 mg/mL, ademais, após a montagem das placas de Elisa conforme a Figura 2, foi realizada incubação a 37 °C, por 24 horas.

Como controle, na linha G das colunas 1 a 6 foi adicionado apenas o caldo e o inóculo para analisar a viabilidade do crescimento microbiano, ainda na linha G os poços da coluna 7 ao 12 foi adicionado apenas o meio de cultura para avaliação da esterilidade do mesmo. Na linha H das colunas 1 a 6 foi feito teste com adição de caldo, inóculo, e Tween 80 a 1% para eliminar a hipótese de que o emulsificante possui algum efeito antimicrobiano, além disso, nas colunas 7 a 12, meio mais Tween 80 foi inserido na linha H testando a esterilidade do emulsificante. Ademais, foi usado o antibiótico cloranfenicol como controle.

Figura 2 - Montagem das placas de Elisa



Fonte: Autoria própria (2021).

Para a leitura do resultado, a revelação foi realizada com o cloreto de trifetil tetrazólio, indicando viabilidade celular por meio da mudança de coloração com botons “avermelhados”, sendo feita visualmente com todos os experimentos realizados em triplicata.

3 RESULTADOS

Na Tabela 1 é possível verificar os resultados da análise de microdiluição em caldo para os OEs de *M. gigantea*, *E. uniflora* e para o antibiótico cloranfenicol frente as bactérias Gram positivas *B. cereus*, *E. faesium* e as Gram-negativas *E. coli* e *S. enterica* Thyphimurium.

Tabela 1 - Resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM).

Bactérias	Óleos essenciais (mg/mL)		Antibiótico (µg/mL)
	<i>M. gigantea</i>	<i>E. uniflora</i>	Cloranfenicol
	CIM	CIM	CIM
<i>B. cereus</i> ATCC 10876	0,78	1,56	12,5
<i>E. faesium</i> ATCC 19433	0,78	3,13	12,5
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,20	0,78	1,56
<i>S. enterica</i> Thyphimurium ATCC 0028.	0,20	0,78	0,78

Fonte: Autoria própria (2021).



Os resultados obtidos demonstraram que os OEs apresentaram atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados. O OE de *M. gigantea* apresentou os melhores resultados, em que os menores valores de CIM foram evidenciados para todos os microrganismos, onde para as bactérias Gram negativas *E. coli*, *S. enterica* Thyphimurium, foram obtidos valores de CIM de 0,20 mg/mL, para ambos, entretanto para as bactérias Gram positivas *B. cereus* e *E. faesium* a CIM foi observada na concentração de 0,78 mg/mL (Tabela 1).

O OE de *E. uniflora* também apresentou ação inibitória contra todos os microrganismos testados, com os melhores valores de CIM para *E. coli* e *S. enterica* Thyphimurium, com 0,78 mg/mL para ambos. Ademais, para as bactérias *E. coli* e *E. faesium* apresentaram valores de concentração inibitória um pouco mais elevados quando comparados com o OE de *M. gigantea* sendo de 1,56 e 3,13 mg/mL respectivamente.

Não obstante, o OE de *E. uniflora* apresentou atividade inibitória na concentração de 54 mg/mL garantindo a inibição de todos os microrganismos testados sendo *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em estudo feito por Garcia (2018). Além disso, foi constatado por Silva (2017) efeitos inibitórios contra bactérias orais, *Streptococcus sanguinis* com uma CIM de 0,1 mg/mL, *S. sobrinus* e *S. mutans* com uma CIM 0,2 mg/mL. Os resultados obtidos pelos autores evidenciam a atividade antimicrobiana do OE de *E. uniflora* contra microrganismos Gram positivos e negativos. Outros autores também descrevem atividade antimicrobianos para o OE de *M. fragrans* onde apresentou boa atividade contra as bactérias Gram negativas, como *K. pneumoniae* e contra a levedura *Candida albicans* (ARMIJOS et al., 2018).

Diante ao exposto, é evidente a ação antimicrobiana de espécies da família Myrtaceae, este trabalho buscou elucidar o potencial antimicrobiano do OE de *M. gigantea*, uma espécie pouco estudada e *E. uniflora* uma espécie com ação antimicrobiana bem consolidada na literatura. Com isso, os OEs apresentaram atividade antimicrobiana contra todos os microrganismos testados, com destaque para o OE de *M. gigantea* que apresentou resultados bem menores quando comparado com o OE de *E. uniflora*, sendo uma alternativa promissora para obtenção de compostos bioativos com possibilidade aplicação no setor farmacêutico, alimentício, de cosméticos, entre outros.

4 CONCLUSÃO

Em suma, os OEs estudados apresentaram atividade antimicrobiana contra bactérias Gram positivas e negativas, indicando grande potencial dos mesmos. Os melhores resultados foram obtidos para *M. gigantea*, onde apresentaram efeitos superiores em relação ao OE de *E. uniflora*, que foi utilizado como referência por ser um reconhecido antimicrobiano natural. O presente estudo, apresenta uma alternativa de produto natural obtido de espécies da família Myrtaceae, com possíveis aplicações no setor farmacêutico e na indústria de alimentos e cosmética.

AGRADECIMENTOS

Registro meu agradecimento à professora Dra. Paula Fernandes Montanher pela oportunidade de trabalho, além disso, agradecemos enormemente a Fundação Araucária pelo financiamento do projeto de iniciação científica. Também somos gratos ao Fábio Antônio Antonelo pelo auxílio na execução das análises.



REFERÊNCIAS

- World Health Organization. Global action plan on antimicrobial resistance. 2015. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/193736>.17. World Health Organization. Global action plan on antimicrobial resistance. 2015.
- World Health Organization. (2019). Critically important antimicrobials for human medicine, 6th rev. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/312266>. Licença: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
- PROENÇA, C.E.B.; AMORIM, B.S.; ANTONICELLI, M.C.; et. al. Myrtaceae in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB171>>. Acesso em: 19 ago. 2021
- ARMIJOS, C. et al. **Artigos científicos**: Chemical composition and antimicrobial activity of *Myrcianthes fragrans* essential oil, a natural aromatizer of the traditional Ecuadorian beverage colada morada. Journal of Ethnopharmacology, v. 225, n. April, p. 319–326, 2018.
- GARCIA, M. O. **Artigos científicos**: Atividade antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de araçá (*Psidium cattleianum* S.) e pitanga (*Eugenia uniflora* L.) sobre patógenos de origem alimentar. Journal of Chemical Information and Modeling, v. 53, n. 9, p. 1–92, 2018.
- MONTALVAN, M. et al. **Artigos científicos**: Chemical Composition, Enantiomeric Distribution, and Sensory Evaluation of the Essential Oils Distilled from the Ecuadorian Species *Myrcianthes myrsinoides* (Kunth) Grifo and *Myrcia mollis* (Kunth) DC. (Myrtaceae). Plants, p. 8–511, 2019.
- NASCIMENTO, A.; PRADE, A. C. K. Aromaterapia: O Poder Das Plantas e dos Óleos. Publicação do ObservaPICS, n. 2, p. 33, 2020. Disponível em: <http://observapics.fiocruz.br/wp-content/uploads/2020/06/Cuidado-integral-na-Covid-Aromaterapia-ObservaPICS.pdf>>.
- PEIXOTO, A. L.; MAIA, L. C. **Manual de Procedimento para Herbários**. INCT - Herbário Virtual da Flora e dos Fungos. Editora Universitária UFPE, 2013.
- ROMAGNOLO, M. B.; SOUZA, M. C. de. Os gêneros *Calycorectes* O. Berg, *Hexachlamys* O. Berg, *Myrcianthes* O. Berg, *Myrciaria* O. Berg e *Plinia* L. (Myrtaceae) na planície alagável do alto rio Paraná, Brasil. Acta Botanica Brasilica, v. 18, p. 613–627, 2004.
- SANTOS, C. et al. **Artigos científicos**: Composição química, atividade antimicrobiana e antioxidante do óleo essencial de folhas *Myrcia palustris* DC. (MYRTACEAE). 2021.
- SILVA, M. ÓLEOS ESSENCIAS: CARACTERIZAÇÃO, APLICAÇÕES E MÉTODOS DE EXTRAÇÃO. 2018.
- SILVA, V. **Artigos científicos**: Atividades biológicas de óleos essenciais de espécies da família Myrtaceae. 2017.
- SOUZA, A. et al. **Artigos científicos**: Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil obtained from *Eugenia pyriformis* Cambess. (Myrtaceae). Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 27, n. 10, p. 934–937, 2021.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global action plan on antimicrobial resistance. World Health Organization, p. 1–28, 2015.