

Influência do aquecimento na atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de *Ocimum basilicum* e *Syzygium aromaticum* pré e pós complexação com a ciclodextrina

Isadora Santos Rosa (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Juliana Harumi Miyoshi (Doutoranda), Graciette Matioli (Coorientadora), Gislaine Franco de Moura Costa (Orientadora), e-mail: gfmcosta@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR.

40300005 – FARMÁCIA

Palavras-chave: Óleos essenciais, atividade antimicrobiana, ciclodextrina.

Resumo:

O *Ocimum basilicum* (Manjerição) e o *Syzygium aromaticum* (Cravo da Índia) são plantas que produzem óleos essenciais com diversas propriedades químicas e biológicas e diferentes aplicações na indústria farmacêutica e alimentícia. Os compostos ativos majoritários encontrados no *O. basilicum* são o linalol e o cinamato e no *S. aromaticum* é o eugenol. Como a utilização dos OEs na indústria farmacêutica e alimentícia são limitadas devido a sua instabilidade diante da luz e de temperaturas elevadas, bem como sua baixa solubilidade, uma alternativa para melhorar a aplicabilidade dos OEs é complexá-los com ciclodextrinas. Esta pesquisa teve como objetivo a avaliação da atividade antimicrobiana antes e após a exposição dos OEs ao aquecimento em diversas temperaturas pré e pós complexação com beta ciclodextrina. Para os ensaios de atividade antibacteriana e antifúngica foram utilizadas cepas ATCC de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella enteritidis*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis* e *Candida tropicalis*. Os resultados mostraram que apenas o OE de *S. aromaticum* apresentou resultados favoráveis quando testados frente à leveduras do gênero *Cândida*.

Introdução

Os óleos essenciais tem uma composição química muito variada e complexa, o que possibilita a existência de diversas propriedades como o poder antimicrobiano, antifúngico, potencial antioxidante, entre outros. Devido a essa grande variedade de compostos e atividades os OEs estão sendo cada vez mais utilizados nas indústrias farmacêuticas e alimentícias (DA GRAÇA CARDOSO, 2007; VIEIRA e SIMON 2000).

O *Ocimum basilicum*, pertencente à família Lamiaceae, é conhecido popularmente como manjeriço, sendo os compostos majoritários encontrados no OE do *O. basilicum* o 1,8-cineol, linalol, metil chavicol ou cinamato de metila (VIEIRA e SIMON 2000).

O *Syzygium aromaticum* (família Myrtaceae), que é conhecido como cravo-da-Índia, tem seu óleo essencial obtido a partir do botão floral seco ou das folhas frescas e seu principal componente é o eugenol, um composto fenólico que apresenta um potencial bactericida, fungicida e nematicida (DA GRAÇA CARDOSO, 2007).

A complexação com as ciclodextrinas (CDs) aumenta a solubilidade dos OEs em meios aquosos, aumentando sua estabilidade, com preservação da sua atividade antioxidante e biodisponibilidade (ASBAHANI et al., 2015).

Materiais e métodos

Os OEs foram obtidos comercialmente e os microrganismos utilizados foram *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 6623, *Salmonella enteritidis* (cepa clínica), *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida parapsilosis* ATCC 22019 e *Candida tropicalis* ATCC 28707.

A suspensão microbiana foi padronizada de acordo com o Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) M07-A9 do CLSI (2012) e M27-A3 do CLSI (2008). As bactérias foram semeadas em Caldo Müller-Hinton (CMH) e incubadas durante 18 a 24 h, enquanto as leveduras foram semeadas em Caldo Sabouraud dextrose por 48 a 72 h. Após o crescimento a suspensão microbiana foi diluída em solução salina estéril (0,85% NaCl) até atingir a turbidez equivalente ao tubo 0,5 da escala de McFarland (aproximadamente 1 a 2×10^8 UFC/mL para bactéria e 1 a 5×10^6 UFC/mL para *Candida* spp.).

Para a obtenção da concentração inibitória mínima (MIC) uma solução de 8 mg/mL dos extratos brutos foi preparada utilizando-se CMH como solvente (solução teste). Um volume de 100 mL de CMH foi adicionado em cada poço de uma placa de 96 poços. Em seguida, 100 mL da solução teste foram adicionados aos poços da primeira coluna e, então, realizou-se uma diluição seriada até a nona coluna, resultando nas seguintes concentrações: 4000; 2000; 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 e 15,63 mg/mL. A décima e a décima primeira coluna foram utilizadas como controle da droga e do meio de cultura respectivamente. A seguir foram adicionados 5 µL da suspensão padronizada de bactéria em todos os poços e incubou-se a 37 ± 2 °C durante 18 a 24 h. O MIC foi evidenciado pela ausência de turvação no meio de cultura. Para *Candida* spp. foi utilizado o meio RPMI-1640 com 0,05% de vermelho de fenol e suplementado com 10% glicose. A incubação foi realizada a 35 ± 2 °C durante 48 a 72 h. O crescimento microbiano foi observado pela presença de turvação e/ou alteração da cor vermelha para amarelo.

Para determinar a concentração fungicida mínima (MFC) uma porção do meio de cultura dos poços onde o MIC foi determinado e das concentrações superiores foram plaqueadas em Ágar Sabouraud. As placas foram incubadas a 37 ± 2 °C por 48 h. A menor concentração do extrato na qual não houve crescimento de microrganismos foi considerada como MFC.

Após a exposição dos OEs às temperaturas de 80, 100, 120 e 180°C, as metodologias foram repetidas para verificação do efeito do aquecimento dos OEs sobre a atividade antimicrobiana pré e pós complexação.

Resultados e Discussão

As análises tiveram concentração inicial de 4000 µg/mL. Quando testados puros ambos os OEs não apresentaram atividade contra nenhuma bactéria. Para as leveduras o OE de *O. basilicum* não apresentou atividade, já os resultados obtidos com o OE de *S. aromaticum* encontram-se descritos na tabela 1. Não foi possível realizar a leitura do MIC para as amostras complexadas devido à turvação do meio, portanto, para a realização do MFC utilizou-se como base o MIC do óleo puro. O único MIC com leitura viável foi do complexo por coprecipitação frente à *C. parapsilosis*.

Tabela 1: Concentração inibitória mínima e concentração fungicida mínima do OE de *S. aromaticum* frente às leveduras do gênero *Candida*

Amostra	OE puro		OE amassamento		OE Coprecipitação	
	MIC (µg/mL)	MFC (µg/mL)	MIC (µg/mL)	MFC (µg/mL)	MIC (µg/mL)	MFC (µg/mL)
<i>C. tropicalis</i>	1000	4000	-	4000	-	2000
<i>C. albicans</i>	1000	4000	-	4000	-	2000
<i>C. parapsilosis</i>	1000	>4000	-	4000	500	4000

A partir dos resultados pode ser observado que o OE obtido pela metodologia de coprecipitação teve melhor atividade contra as leveduras, porém com a metodologia de amassamento não foi obtido um resultado favorável. Para *C. parapsilosis* não foi possível determinar o MIC para o amassamento, mas para a coprecipitação o CIM foi de 500 µg/mL e o MFC foi de 4000 µg/mL.

Radünz et al. (2019) dizem que a atividades antimicrobianas conferida aos OEs é considerada alta quando o CIM é até 500 µg/mL, moderada quando entre 600 e 1500 µg/mL e fraca acima de 1600 µg/mL, ou seja, o OE de *S. aromaticum* apresentou uma atividade antimicrobiana moderada quando em estado puro, já o complexo formado por coprecipitação foi considerado alto quando frente à *C. parapsilosis*.

Conclusões

Pode ser observada atividade antimicrobiana apenas no OE de *S. aromaticum*, pois tem o eugenol como composto majoritário, o que explica esta ação e apenas as leveduras do gênero *Cândida* foram susceptíveis. Quando comparadas as atividades antimicrobianas do OE puro e do OE complexado com CD observa-se que a complexação melhora esta atividade.

Agradecimentos

Agradeço aos Departamentos de Farmácia e de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá (UEM) pelo apoio e à Universidade Estadual de Maringá pela bolsa de iniciação científica.

Referências

ASBAHANI, E. EL.; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; AÏT ADDI, E. H.; CASABIANCA, H.; MOUSADIK, A. EL; HARTMANN, D.; JILALE, A.; RENAUD, F. N. R.; ELAISSARI, A. Essential oils: From extraction to encapsulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v.483, p.220–243, 2015.

DA GRAÇA CARDOSO, M et al. Avaliação do potencial fungitóxico do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry (cravo-da-índia). **Tecnológica**, v. 11, n. 1, p.11-14, 2007.

RADÜNZ, Marjana et al. Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. **Food chemistry**, v. 276, p. 180-186, 2019.

VIEIRA, R. F.; SIMON, J. E; Chemical characterization of basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. **Economic botany**, v. 54, n. 2, p. 207-216, 2000.