

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO ÓLEO FIXO DA PLANTA *Myrocarpus Frondosus* Allemão

LETÍCIA RAIELI DE JESUS MARQUES¹; IVANDRA IGNES DE SANTI²;
MÍRIAN RIBEIRO GALVÃO MACHADO³; ROGÉRIO ANTONIO FREITAG⁴

¹*Química Forense-Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e de Alimentos - UFPel -*
Iraielijm@gmail.com

²*Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção - UFPel -*
ivandra.santi@yahoo.com.br

³*Departamento de Química de Alimentos- Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e de*
Alimentos - UFPel -miriangalvao@gmail.com

⁴*Departamento de Química Orgânica- Centro de Ciências Químicas Farmacêuticas e de Alimentos -*
UFPel - rafreitag@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A planta *Myrocarpus frondosus* Allemão, conhecida popularmente como Cabreúva, pertence à família Fabaceae, e é encontrada no Rio Grande do Sul nas florestas estacionais do Alto Uruguai e Depressão Central a bacia do rio Ibicuí e a submata dos pinhais (REITZ et. al., 1983). Utilizada popularmente no tratamento como: abscessos, bronquite e laringite (LORENZI; MATOS; 2002). Uma das maiores fontes farmacêuticas são encontradas em plantas, sendo principal recurso utilizado na medicina tradicional, sendo extraído devido sua eficácia contra patógenos (MIRPOUR, et al., 2015).

Apesar da diversidade existente de antimicrobianos ser enorme, ainda se busca um antimicrobiano que apresente um amplo espectro de ação, com baixa toxicidade e a menor incidência de resistência bacteriana (ALVARENGA et al., 2007). Assim, busca-se na natureza novos compostos com atividade antimicrobiana, já que muitos antimicrobianos existentes, já se tornaram resistentes aos microrganismos patógenos (OMS, 2011; Fabri et. al., 2011).

Neste contexto, este estudo tem como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do óleo fixo das sementes desta planta frente a quatro bactérias de origem alimentar.

2. METODOLOGIA

2.1 Material vegetal

As sementes foram coletadas na encosta superior do Nordeste, no estado do Rio Grande do Sul. No laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais – LPPN, o material foi seco em estufa de circulação de ar à temperatura inferior à 40°C.

2.2 Extração do óleo fixo

O óleo fixo foi extraído, utilizando 25 g da semente previamente triturada onde adicionou-se 300 mL de hexano. A extração foi realizada em aparelho de Soxhlet, com duração de 6 horas. Ao término da extração o solvente foi retirado pelo

rotaevaporador. Em seguida, o óleo fixo foi acondicionado em frasco hermeticamente fechado para posterior análise cromatográfica e teste in vitro.

2.3 Micro-organismos

A atividade antimicrobiana do óleo fixo foi testada individualmente com quatro cepas padrões: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listéria monocytogenes* ATCC 7644 e *Salmonela typhimurium* ATCC 13311.

2.4 Preparação dos inóculos

Em um tubo de ensaio contendo solução salina 0,85% preparou-se suspensões das cepas testes, as quais foram padronizadas de acordo com a escala 0,5 de Mac Farland, correspondendo à concentração de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL). A leitura foi realizada em espectrofotômetro num comprimento de onda $\lambda = 625$ nm em uma absorbância entre 0,08 – 0,10.

2.5 Ensaios da atividade antimicrobiana

Para o ensaio da atividade antimicrobiana foi utilizado o método de concentração mínima inibitória (MIC). Todos os testes foram realizados em duplicatas e estas foram repetidas. O MIC do óleo fixo contra microrganismos foi determinado pelo método de microdiluição em caldo (NCCLS, 2003) com modificações.

No controle de inibição, no método de microdiluição, utilizou-se o dimetilsulfóxido (DMSO) como controle positivo.

2.6 Determinação da concentração mínima inibitória (MIC)

O ensaio de susceptibilidade em caldo, utilizou-se o método NCCLS (2003) com modificações, para a determinação do MIC. Todos os testes foram realizados em Caldo Soja Trypticaseína (TSB) onde preparou-se uma suspensão com uma concentração de 5×10^5 UFC/mL. O óleo fixo foi diluído em DMSO tendo como concentração inicial de 1mg/mL.

As placas foram incubadas a 37°C durante um período de 24h. O MIC foi calculado como a diluição mais elevada, que mostra a inibição completa do micro-organismo utilizado.

2.7 Determinação da concentração bactericida mínima (CBM)

Com os resultados do MIC, as cavidades que mostraram ausência completa do crescimento de cada poço, foram identificadas e 10µL de cada poço foram transferidos para placas de Petri contendo Agar Mueller Hinton e incubou-se a 37°C por 24h. A completa ausência de crescimento foi considerada como a concentração bactericida mínima.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta pesquisa constatou-se que o óleo fixo apresentou inibição de crescimento no teste de Concentração Inibitória Mínima nas concentrações de

1mg/mL; 0,5mg/mL e 0,25mg/mL, frente às quatro bactérias testadas. Essa ação bacteriana do óleo pode ser devido aos compostos encontrados nele, podendo haver a interação entre eles (PROBST, 2012), desse modo, a ação do óleo pode ser atribuída aos diferentes componentes, inclusive os de baixa concentração.

Os óleos fixos são ricos em ácidos graxos (SIMOES, et al, 2010) e esses compostos apresentam atividade antimicrobiana em amplo espectro, tanto para bactérias Gram positivas como Gram negativas (DESBOIS & SMITH, 2010; THORMAR & HILMARSSON, 2007; KAKISAWA et al, 1988) e esses resultados estão de acordo com a nossa pesquisa.

Já no teste Concentração Bactericida Mínima, as concentrações inibidas, foram testadas e as mesmas apresentaram crescimento bacteriano, logo esse óleo fixo possui ação bacteriostáticas frente às bactérias testadas.

4. CONCLUSÕES

O estudo envolvendo a atividade antimicrobiana do óleo fixo da Cabreúva parece ser promissor contra bactérias Gram positivas e Gram negativas, no entanto, mais estudos são necessários, como, identificar os compostos do óleo e seus ativos, além disso, estudos in vivo devem ser realizados para entender o mecanismo de ação como agente farmacológico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARENGA, A.L. et al. Atividade antimicrobiana de extratos vegetais sobre bactérias patogênicas humanas. **Rev. Bras. PL. Med.**, v. 9, n.4., p. 86-91, 2007.
- DESBOIS A. P.; SMITH, V.J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. **Appl Microbiol Biotechnol**, v. 85, n.1629, p. 42, 2010.
- FABRI, R. L.; NOGUEIRA, M. S.; DUTRA, L. B.; BOUZADA, M. L. M. & SCIO, E. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicinales**, Botacu,v. 13, p. 183-189, 2011.
- PROBST, Isabella da Silva. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais e avaliação de potencial sinérgico**, 2012, Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração Biomoléculas – Estrutura e função) no Instituto de Biociências de Botucatu.
- KAKISAWA, H.; ASARI, F.; KUSUMI, T.; TOMA, T.; SAKURAI, T.; OOHUSA, T. et al. An allelopathic fatty acid from the brown alga *Cladosiphon okamuranus*. **Phytochemistry** , v. 27, n. 731, p.5, 1988.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas cultivadas. São Paulo: **Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda**, 2002.
- MIRPOUR, M.; SIAHMAZGI, Z. G. & KIASARAIE,M. S. Antibacterial activity of clove, gall nut methanolic and ethanolic extracts on *Streptococcus mutans* PTCC 1683 and *Streptococcus salivarius* PTCC 1448. **Journal of oral biology and craniofacial research**, v. 5, n. 1, p. 7, 2015.

NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 (ISBN 1-56238-485-6), USA, 2003.

REITZ, R. Bromeliáceas e a malária – bromélia endêmica. Fl. Ilustr. Catarinense, Parte. **Fasc. Brom.**: p. 518, 1983.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; MELLO, J.C.P.; GOSMANN,G.; MENTZ, L.A.; PETROVICZ, P.R.: **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 6 ed.- Porto Alegre, Ed da UFRGS; Florianopolis: Ed da UFSC, 2010.

THORMAR, H.; HILMARSSON, H. The role of microbicidal lipids in host defense against pathogens and their potential as therapeutic agents. **Chem Phys Lipids** , v.150, n.1, p.1, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. The world medicines situation, Traditional medicines: global situation, issues and challenges. Geneva. 2011