



ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS POR TEMPO DE EXTRAÇÃO DISTINTOS

*Danielle Cristina Sampaio Pesco*¹; *Mayara Teixeira da Silva*²;
*Diógenes Aparício Garcia Cortes*³; *Lúcia Elaine Ranieri Cortez*⁴

RESUMO: A espécie *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown pertencente à família *Verbenaceae*, é um arbusto aromático e nativo da América do Sul, conhecida popularmente como falsa-melissa. Entre os metabólitos secundários descritos para *L. alba* encontra-se óleo essencial, que pode variar qualitativamente e quantitativamente, em função de diversos fatores, como diferentes tempos de extração. Apresenta diversas atividades farmacológicas, dentre elas a atividade antimicrobiana. De acordo com a lista publicada pela Central de Medicamentos, trata-se de uma das espécies medicinais mais utilizadas pela população brasileira. O objetivo desta pesquisa é verificar a atividade antimicrobiana do óleo essencial das folhas de *L. alba*, extraído em diferentes tempos de extração. Mudanças de *Lippia alba* L. serão cultivadas em canteiros e este receberá uma concentração de adubo 1%; em peso. Após 180 dias, as folhas da *Lippia alba* L. serão colhidas para extração do óleo essencial. Para a extração do óleo essencial das folhas será utilizado o aparelho de Clevenger por um tempo de duas e quatro horas. Posteriormente os óleos serão analisados quanto à atividade antimicrobiana. Espera-se obter resultados quanto à influência do tempo de extração na qualidade, rendimento e atividade antimicrobiana de óleo essencial.

PALAVRAS-CHAVE: *Lippia alba*., óleo essencial., atividade antimicrobiana.

1. INTRODUÇÃO

A facilidade de acesso, baixo custo e compatibilidade cultural das plantas tornam-se seu emprego medicinal recomendável, especialmente no atendimento a comunidade cuja assistência à saúde tem se mostrado difícil no Brasil. Além disso, o Brasil apresenta biodiversidade invejável e ainda desconhecida sob o ponto de vista científico, somente 5% das espécies tem sido estudado fitoquimicamente (STALIKAS, 2007). Óleos e extratos de plantas há muito tempo têm servido de base para diversas aplicações na medicina popular, e as plantas medicinais aparecem como uma fonte praticamente inexplorada de compostos terapêuticos, tal realidade serviu para diversas investigações científicas, com vistas na confirmação da atividade antimicrobiana dos óleos essenciais (NASCIMENTO et al., 2007).

¹ Discentes do Curso de Farmácia. Departamento de Farmácia do Centro Universitário de Maringá - Cesumar, Maringá – Paraná. Bolsista do Programa PROBIC- Cesumar. pescomineli@hotmail.com.

² Discentes do Curso de Estética e Cosmética do Centro Universitário de Maringá - Cesumar, Maringá – Paraná. Bolsista do Programa PROBIC- Cesumar. Mayara.teixeira@hotmail.com.

³ Docente do Mestrado em Promoção da Saúde do curso de Medicina do Centro Universitário de Maringá-Cesumar, Maringá - Pr. dagcortez@uem.br.

⁴ Docente do Mestrado em Promoção da Saúde do curso de Medicina do Centro Universitário de Maringá-Cesumar, Maringá - Pr. luciaelaine@cesumar.br.

Óleo essencial é uma mistura complexa de substâncias voláteis lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Podem ser chamados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essências devido a algumas de suas características físico-químicas, como volatilidade, solubilidade em solventes orgânicos (como o éter) e aroma intenso, muitas vezes agradável (MATTOS et al., 2007). Na erva-cidreira, o óleo essencial é armazenado nas folhas, mais precisamente nos tricomas secretores (presentes na epiderme foliar) e nos parênquimas paliçádico e lacunoso (GOMES et al., 1993; BARBOSA et al., 2006).

A *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown é um subarbusto aromático, pertencente à família Verbenaceae, é encontrada em praticamente todas as regiões do Brasil, é de grande importância na medicina popular brasileira. É uma das espécies medicinais mais utilizadas pela população brasileira, de acordo com a lista publicada pela Central de Medicamentos (CEME), (SANTOS et al., 2004). Extratos e infusões de suas folhas e flores são usados na medicina popular em diversos países para tratamento de resfriados, gripes, bronquites, tosses, asma, febre, problemas digestivos e hepáticos, sífilis, diarreias e disenterias (BARBOSA et al., 2006).

Entre os metabólitos da planta, destaca-se óleo essencial, e o conhecimento de fatores positivos quanto ao melhor tempo de extração deste, é de grande valia, já que pode favorecer uma maior qualidade. É crescente a procura de plantas com atividade antimicrobianas e pesquisas na busca destas plantas são muito importantes, uma vez que, podem ser fontes de futuros medicamentos, justificando desta maneira a importância deste projeto.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL VEGETAL

Mudas de *Lippia alba* L. (erva-cidreira brasileira) serão plantadas em canteiros, situados no Horto de Plantas medicinais do CESUMAR. Serão cultivados dois canteiros de Erva Cidreira Brasileira (L1, L2,), com espaçamento padrão de 0,50 m x 0,50 m entre as plantas. Cada canteiro receberá uma concentração de adubo 1%; em peso. Os canteiros serão irrigados diariamente, conforme a necessidade das plantas. Após 180 dias, as folhas de *Lippia alba* L. serão colhidas e escolhidas as mais sadias para posterior extração de óleo essencial.

2.2 EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

A extração do óleo essencial das folhas colhidas em horários distinto será feito pelo processo de destilação por arraste à vapor, utilizando o aparelho de Clevenger (FARMACOPÉIA, 2000), sendo utilizadas 100 gramas de folha seca para 1000 mL de água destilada. O tempo de extração será de 2 horas e de 4 horas, sendo o experimento realizado em triplicata.

2.3 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.

Os seguintes microrganismos serão utilizados: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Bacillus subtilis* ATCC 6623 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Também serão utilizadas amostras de *S. aureus* penicilina-sensível e resistente, isoladas no Laboratório de Microbiologia. Culturas destas bactérias crescerão em caldo nutriente a 37 °C e mantidas em ágar inclinado a 4 °C.

Os ensaios antibacterianos serão realizados aplicando-se os testes de susceptibilidade para determinação da concentração mínima inibitória (CMI), segundo normas descritas pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards (Nccls) (1997).

Os testes serão realizados em placas de 96 furos (ELISA), onde diluições seriadas em duplicata das amostras e antibióticos de referência serão preparadas usando caldo de Müeller-Hinton (CMH) para o crescimento respectivo de bactérias. Os óleos essenciais serão transferidos para as placas de microdiluição depois de dissolvidas em DMSO e caldo seletivo de crescimento bacteriano numa concentração inicial de 1000 µg/mL. Os inóculos bacterianos serão preparados nestes meios e a concentração ajustada frente ao tubo 0,5 McFarland de turbidez padrão (10^8 unidades formadoras de colônia [UFC]/mL) e respectivamente diluídos 1:10 e 1:100 no caldo, para os procedimentos de microdiluição.

Porções de 5 µL de cada suspensão bacteriana serão transferidas para todos os poços da placa de microdiluição os quais continham 100 µL da amostra ou do antibiótico de referência (controle). As placas serão incubadas em estufa a 37 °C por 24 horas. Após crescimento e leitura dos resultados em cada poço da placa serão adicionados 10 µL de um revelador de crescimento bacteriano - o cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazolium (TTC).

A concentração mínima inibitória (CMI), nestes ensaios, será considerada a menor concentração da amostra que impede visivelmente o crescimento microbiano. A concentração mínima bactericida (CMB) será determinada pela subcultura de 10 µL de cada poço negativo e do controle de crescimento positivo. A CMB será definida como a menor concentração que forneceu uma subcultura negativa ou apresentará somente uma colônia de crescimento.

3. RESULTADOS ESPERADOS

Com o resultado desta pesquisa, espera-se obter informações quanto à influência do tempo de extração no teor de óleo essencial, bem como, a atividade antimicrobiana destes óleos obtidos das folhas de *Lippia alba* L.. Este trabalho fornecerá, portanto, um melhor conhecimento quanto ao melhor tempo de extração para a obtenção dos óleos essenciais que poderão ser utilizadas com potencial antimicrobiano.

4. REFERÊNCIAS

BIASI, L. A.; COSTA, G. Propagação vegetativa de *Lippia alba*. **Cienc. Rural**, v. 33, n. 3, p. 455-459, 2003.

BARBOSA, L.C.A et al. Influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. **Química Nova**, v.29, n.6, 1221-1225, 2006.

CAMARGO, R.C.R. **Biologia Floral da *Lippia Alba* (Verbenaceae), atividade antibacteriana e caracterização de amostras de méis de *Apis mellifera* L.** 2001. 99p. Tese de Doutorado em Zootecnia - Nutrição e produção animal - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu.

Farmacopéia Brasileira, 4ª ed., Atheneu: São Paulo, 2000.

GOMES, E.C.; MING, L.C.; MOREIRA, E.A.; MIGUEL, O.G. Constituintes de óleo essencial de *Lippia alba* (Mill) N. E. Br. (Verbenácea). **Revista Brasileira de Farmácia**, v.74, n.2, p.29-32, 1993.

MATTOS, S.H.; INNECCO, R.; MARCO, C.A.; ARAÚJO, A.V. Plantas medicinais e aromáticas cultivadas no Ceará: tecnologia de produção e óleos essenciais. **Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil**, 2007. p. 61-63.(série BNB - ciência e tecnologia 2).

NASCIMENTO, P.F.C et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 17(1), 108-113, Jan/Mar. 2007.

SANTOS, M.R.A.; INNECCO, R. Adubação orgânica e altura de corte da erva-cidreira-brasileira. **Horticultura Brasileira**, v.22, n.2, p.182-185, abr./jun. 2004.

STALIKAS C. D, 2007. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. **Journal of Separation Science**. 30: 3268 – 3295.