

Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de *eucalyptus* cultivadas em Goiás

Estanislau, A.A.¹; Barros, F.A.S.¹; Peña, A.P.²; Santos, S.C.³; Ferri, P. H. ³; Paula, J.R.^{4*}

¹ Instituto de Ciências Biológicas;

² Estação Florestal Experimental do IBAMA – EFLEX;

³ Instituto de Química;

⁴ Faculdade de Farmácia;

Universidade Federal de Goiás

RESUMO: Neste trabalho foi realizado um estudo da composição química e da atividade antibacteriana dos óleos essenciais extraídos por hidrodestilação, em aparelho de Clevenger modificado, das folhas dessecadas e trituradas de *Eucalyptus cloeziana* F. Mueller, *E. citriodora* Hook, *E. saligna* Smith, *E. grandis* Hill ex Maiden, *E. microcorys* F. Mueller. A análise da composição química foi realizada por CG/EM e a atividade antibacteriana foi avaliada por difusão em ágar contra os microrganismos *Escherichia coli* O:158, *E. coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708. Os óleos essenciais de *E. citriodora* e *E. grandis* apresentaram maior efeito inibitório contra bactérias Gram negativas.

Unitermos: *Eucalyptus* spp; óleos essenciais; atividade antibacteriana.

ABSTRACT: Chemical and biological investigation of *Eucalyptus cloeziana*, *E. citriodora*, *E. saligna*, *E. grandis* and *E. microcorys* essential oils were evaluated. The essential oils analysis were performed by GC/MS and the antibacterial activity was assayed *in vitro* by using the agar diffusion method against *Escherichia coli* O:158, *E. coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 and *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708. The essential oils of *E. citriodora* and *E. grandis* showed a major inhibitory activity against Gram negative bacteria.

Keywords: *Eucalyptus* species; essential oils; antibacterial activity.

INTRODUÇÃO

Em diversas partes do mundo, várias espécies de *Eucalyptus* vêm sendo cultivados e explorados em grande escala há muitos anos. No Brasil, ele é encontrado em todas as regiões, sendo conhecidas cerca de 400 espécies, das quais são utilizadas desde o caule, de onde se extrai a celulose para a indústria do papel, até as folhas, de onde são retirados os óleos essenciais de diferentes composições químicas.

O eucalipto tem sido considerado útil em várias áreas tais como: ambiental, econômica, medicinal e farmacêutica. O gênero *Eucalyptus* apresenta as seguintes propriedades terapêuticas: antifúngica, antisséptica, adstringente, antiinflamatória, antibacteriana, cicatrizante e é um desinfetante de grande potencialidade. (GRA et al., 1990; ALVES, 1992; CUÉ et al., 1993; RODRIGUEZ, 1994; MATOS, 1997; SIMÕES et al., 1999).

As infecções bacterianas estão disseminadas pelo mundo, principalmente nos países subdesenvolvidos e, por isso os estudos sobre a atividade antimicrobiana de plantas representam um grande desafio para a descoberta e a identificação de novos fármacos.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a atividade antimicrobiana e analisar a composição química dos óleos essenciais das folhas de algumas espécies de *Eucalyptus*, cultivadas na Estação Florestal Experimental do IBAMA – EFLEX, localizada em Silvânia, Goiás.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material Botânico

As folhas de *Eucalyptus cloeziana* F. Mueller, *E. citriodora* Hook, *E. saligna* Smith, *E. grandis* Hill ex Maiden e *E. microcorys* F. Mueller foram coletadas na Estação Florestal Experimental do IBAMA- EFLEX de Silvânia, em junho de 2000 e dessecadas à temperatura ambiente.

Extração

Os óleos essenciais das folhas dessecadas e moídas das diferentes espécies de *Eucalyptus* foram extraídos por hidrodestilação em aparelho de Clevenger modificado por 4 a 5 horas. Os óleos essenciais obtidos foram acondicionados em frascos de vidro e armazenados na temperatura de -10°C até serem usados.

Avaliação da composição química

As amostras dos óleos essenciais obtidos foram analisadas por cromatografia gasosa, acoplada a espectrometria de massas (CG/EM), no aparelho Shimadzu QP5050A, utilizando uma coluna capilar de sílica fundida (CBP-5; 30m x 0,25mm x 0,25µm), mantendo-se um fluxo de 1 ml/min de Hélio, como gás de arraste, e aquecimento com temperatura programada (60°C/2min; 3°C min⁻¹/ 240°C; 10°C min⁻¹/280°C; 280°C/10min), e energia de ionização de 70 eV. Volume de injeção de 1ml das amostras diluídas em CH₂Cl₂ no modo Split com uma razão de 1:5. A identificação dos componentes dos óleos essenciais foi realizada por comparação dos espectros de massas e índices de retenção com os valores de literatura dos componentes mais comuns de óleos essenciais (ADAMS, 1995). Os índices de retenção foram calculados através da coinjeção de uma mistura de hidrocarbonetos, C 9 – C 22, e com aplicação da equação de Van Den Dool e Kratz (DOOL e KRATZ, 1963; FERRACINI, 1995).

Avaliação da atividade antibacteriana

Microrganismos utilizados

Foram utilizadas as seguintes cepas de bactérias: *Escherichia coli* enteropatogênica clássica monovalente 0:158, isolada de fezes diarréicas de crianças no IPTSP/UFG; *Escherichia coli* ATCC 8739; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708.

As culturas bacterianas foram repicadas mensalmente e conservadas em geladeira. A padronização do inóculo empregado nos experimentos foi feita da seguinte maneira: as culturas foram ativadas em Caldo Casoy por 15 h a 37°C, obtendo-se assim 10⁸ células/mL, estimadas por comparação ao tubo 0,5 da Escala de Mc Farland, e estas foram inoculadas em meios de cultura para avaliação da atividade antibacteriana.

Avaliação da atividade antimicrobiana por difusão em ágar

Os microrganismos foram ativados em Caldo Casoy por 15h a 37°C e inoculados diretamente em placas de Petri contendo Ágar de Mueller Hinton, nas quais foram colocados discos de papéis de 6mm de diâmetro (Discos Blank estéreis/ CECON) impregnados com 5µl de cada óleo essencial em estudo. Um controle positivo foi realizado com discos impregnados com 30mcg de loranfenicol (Sensibiodisc/ CECON). Após a montagem do experimento, as culturas foram incubadas a 37°C por 24h. Os resultados foram obtidos através da observação da presença de halos de inibição e medição de seus diâmetros em milímetros (KONEMAN et al., 1997; IROBI et al., 1994).

RESULTADOS

Avaliação da atividade antibacteriana

A Tabela 1 apresenta os valores dos halos de inibição (mm) observados para as amostras dos óleos essenciais extraídos das diferentes espécies de *Eucalyptus* frente aos microrganismos *Escherichia coli* enteropatogênica clássica monovalente 0:158, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708. Discos impregnados com 30 mcg de cloranfenicol (Sensibiodisc/ CECON) foram utilizados como controle positivo.

Tabela 1. Atividade antibacteriana dos óleos essenciais de várias espécies de *Eucalyptus* frente a diferentes microrganismos.

AMOSTRAS	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Escherichia coli</i> 0:158	<i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 10708
<i>E. cloeziana</i>	20	20	(-)	(-)
<i>E. citriodora</i>	10	10	14	10
<i>E. grandis</i>	20	10	10	10
<i>E. microcorys</i>	08	(-)	(-)	(-)
<i>E. saligna</i>	14	15	15	15
Cloranfenicol	25	25	25	25

Os resultados representam o diâmetro do halo de inibição em milímetros; (-) Não houve inibição de crescimento.

Composição química dos óleos essenciais

A Tabela 2 apresenta os resultados da análise da composição química, feita por CG/EM, dos óleos essenciais obtidos por hidrodestilação, em aparelho de Clevenger modificado, das folhas das cinco espécies estudadas de eucalipto, bem como os rendimentos dos processos de extração.

Tabela 2. Rendimentos e componentes majoritários dos óleos essenciais extraídos por

Componentes	<i>E. citriodora</i> ^a	<i>E. saligna</i> ^b	<i>E. microcorys</i> ^c	<i>E. grandis</i> ^d	<i>E. cloeziana</i> ^e
β-pineno	-	-	-	11,54	29,53
δ-2-careno	-	-	-	0,20	-
O-cimeno	-	-	-	16,66	-
1,8-cineol	0,93	6,17	86,72	7,74	-
γ-Terpineno	-	0,79	-	16,84	-
Terpinoleno	-	-	-	0,77	-
α-fenchol	-	-	-	0,70	-
Isoboneol	-	-	-	1,56	-
4-Terpinol	-	0,45	-	3,09	0,29
8-p-cimeno	-	-	-	0,23	-
α-Terpineol	-	9,25	3,90	4,07	1,93
Timol	-	0,18	-	0,38	-
β-cariofileno	-	-	-	2,98	-
α-humuleno	-	-	-	0,43	-
Seicheleno	-	0,16	-	0,18	-
γ-muuroleno	-	-	-	0,17	3,97
6,11-óxido de 4-acoreno	-	-	-	1,95	-
α-acoreno	-	-	-	0,85	-
Cubeno	-	-	-	0,47	-
3-neotujamol	6,78	-	-	-	-
Citronelal	82,33	0,30	-	-	-
Isodiidrocarveol	0,43	-	-	-	-
Formato de citronelila	7,80	-	-	-	-
9-epicariofileno	0,43	-	-	-	6,59
Isobutirato de pentila	-	2,05	0,81	-	-
Trans-pinocarveol	-	-	1,84	-	-
Pinocarvona	-	-	1,76	-	-
Sabineno	-	-	-	-	0,27
Mirceno	-	-	-	-	31,82
α-bisoboleno	-	-	-	-	0,77
p-cimeno	-	25,61	2,82	-	1,21
Borneol	-	4,70	1,34	-	-
γ-cadineno	-	-	-	-	0,36
β-eudesmol	-	-	-	-	0,61
α-eudesmol	-	-	-	-	0,72
Kusinol	-	-	-	-	0,42
α-pineno	-	0,27	-	-	-
n-butirato de isopentila	-	1,13	-	-	-
Limoneno	-	1,91	-	-	-
Canfenol	-	1,51	-	-	-
Endofenhol	-	2,39	-	-	-
α-canfolenal	-	7,95	-	-	-
Cis-pinocarveol	-	5,76	-	-	-
Hidrato de canfeno	-	0,27	-	-	-
Pinocanfona	-	1,57	-	-	-
Trans-carveol	-	3,77	-	-	-
Cis-carveol	-	0,68	-	-	-
Carvona	-	0,39	-	-	-
Carvotanacetona	-	0,19	-	-	-
7-hidroxi-p-cimeno	-	0,21	-	-	-
Carvacrol	-	0,41	-	-	-
Espatuleno	-	1,78	-	-	-

Rendimentos: ^a 4,0%; ^b 0,5%; ^c 2,5%; ^d 2,0%; ^e 0,75%.

DISCUSSÃO

Através da avaliação da atividade antibacteriana, observou-se que todos os óleos essenciais testados foram ativos contra *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. O óleo essencial de *E. myrcocorys* foi o único que não apresentou atividade inibitória sobre *E. coli* ATCC 8739. Todos os outros exerceram considerável atividade sobre este microrganismo.

Com respeito a *E. coli* 0:158 foi observado que os óleos essenciais do *E. gloeziania* e *E. myrcocorys* não apresentaram atividade sobre esse microrganismo. Os óleos de *E. cyrtiodora*, *E. grandis* e *E. saligna* exerceram atividade inibitória.

Os óleos essenciais de *E. gloeziania* e *E. myrcocorys* não apresentaram atividade antimicrobiana para *S. choleraesuis* ATCC 10708. Os óleos essenciais de *E. cyrtiodora*, *E. grandis* e *E. saligna* apresentaram resultados satisfatórios de inibição desse microrganismo.

Na análise da composição química observou-se um predomínio de monoterpenos em todos os óleos essenciais analisados. Foi observado, também, um alto teor de citronelal (82,33%) no óleo essencial de *E. citriodora*. Por ser esta, uma substância irritante da mucosa do trato respiratório, preparações feitas com esta planta não devem ser utilizadas em inalações, corroborando as informações de Matos (1997).

Foi observado um alto teor de 1,8-cineol (86,72%) no óleo essencial de *E. myrcocorys*, o que indica que essa espécie pode ser uma importante fonte desta substância, responsável pelas propriedades expectorantes e antissépticas das vias respiratórias de *E. globulus* Labill. Essa última espécie é de difícil cultivo em regiões de clima quente, como é o caso do Estado de Goiás.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, PADCT III/MCT/CNPq e à Fundação de Apoio à Pesquisa-FUNAPE/UFG pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R. P. *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy*. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 1995.

ALVES, A. T. L. S. A utilização da solução natural de eucalipto nas nebulizações, como auxiliar nos tratamentos das infecções respiratórias agudas. *Revista Brasileira de Enfermagem*, v. 45, n. 2/3, p. 183-186, 1992.

CUÉ, M. T.; RIOS, C. N.; DIAZ, M. E. G.; JIMÉNEZ, J. S. Uso de la tintura de eucalipto en estomatologia. *Medicentro*, v. 9, n. 2, p. 90 -92, 1993.

FERRACINI, V. L. Óleos essenciais de *Baccharis* e sua interação com insetos polinizadores. Campinas, 1995. 205p. Tese de Doutorado - Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas.

GRA, G.; MAGRANER, J.; ROSADO, A.; BALUJA, R. Analisis del aceite esencial del *Eucalyptus grandis* (Hill ex Maiden). *Revista Cubana de Farmacia*, v. 24, n. 1, p. 99 -108, 1990.

IROBI, O. N.; MOO-YOUNG, M.; ANDERSON, W. A.; DARAMOLA, S. O. Antimicrobial activity of bark extracts of *Bridella ferruginea* (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 43, n.3, p. 185-190, 1994.

KONEMAN, E.; ALLEN, S. D.; JAND, W. M.; SCHERECKENBERGER, P. C.; WIN, Jr. W. C. *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 5. ed. Philadelphia: Lippincott, 1997.

MATOS, F. J. A. *As plantas das farmácias vivas*. Fortaleza: BNB, 1997.

RODRIGUEZ, M. G. Q. Accion antibacteriana del extracto fluido de *Eucalyptus citriodora* Hook. Estudio in vitro. *Revista Cubana de Medicina Militar*, v. 23, n. 1, p.3 - 6, 1994.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS / EDUFSC, 1999.

DOOL, H. V. D.; KRATZ, P. D. J. A. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, n. 11, p. 463-471, 1963.

***Autor para correspondência:**

Prof. José Realino de Paula
Laboratório de Farmacognosia
Faculdade de Farmácia
Universidade Federal de Goiás
Caixa Postal 131
74605-220 - Goiânia - GO
E-mail: jrealino@farmacia.ufg.br
