



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ÊNFASE EM AMBIENTAIS

WILLYANE RODRIGUES FERREIRA

ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Syzygium cumini* (L.) Skeels
FRENTE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES

Recife

2022

WILLYANE RODRIGUES FERREIRA

ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE *Syzygium cumini* (L.) Skeels
FRENTE BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES

Trabalho de conclusão de curso apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ambientais do Programa de Graduação da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas - Ambientais

Orientadora: Norma Buarque de Gusmão

Co-orientadora: Nicole Estefânia Barrera Paredes

Recife

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Ferreira, Willyane Rodrigues Ferreira.

Atividade do óleo essencial das folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels frente
bactérias multirresistentes / Willyane Rodrigues Ferreira Ferreira. - Recife,
2023.

25 : il., tab.

Orientador(a): Norma Buarque de Gusmão Gusmão

Cooorientador(a): Nicole Estefânia Barrera Paredes Paredes

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas /Ciências
Ambientais - Bacharelado, 2023.

Inclui referências, apêndices.

1. Óleos essenciais. 2. *Syzygium cumini* (L.) Skeels. 3. Bactérias
multirresistentes. 4. Antibactericida. 5. Cromatografia gasosa. I. Gusmão,
Norma Buarque de Gusmão. (Orientação). II. Paredes, Nicole Estefânia Barrera
Paredes. (Cooorientação). III. Título.

570 CDD (22.ed.)

WILLYANE RODRIGUES FERREIRA

**ATIVIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DE
Syzygium cumini (L.) Skeels FRENTE BACTÉRIAS
MULTIRRESISTENTES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas com ênfase em Ciências Ambientais, da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos à obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Data de Aprovação: 05/05/2023

Nota: 8,0 (oito)

BANCA EXAMINADORA:

Documento assinado digitalmente
 NORMA BUARQUE DE GUSMAO
Data: 08/05/2023 12:21:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. NORMA BUARQUE DE GUSMAO (Orientadora)
Departamento de Antibióticos - UFPE

Documento assinado digitalmente
 NINIVE BEZERRA FLORENCIO
Data: 08/05/2023 12:47:23-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. MSc Nínive Bezerra Florêncio (1º Titular)
da Faculdade Santíssima Trindade-FAST

Documento assinado digitalmente
 EDNA BARBOZA DE LIMA
Data: 08/05/2023 17:04:03-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Edna Barboza de Lima, (2º Titular)
Departamento de Química Fundamental – UFPE – Pós-Doc

RECIFE/2023

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, sem Ele não teria chegado até aqui. Proporcionou-me adquirir muita sabedoria e experiências incríveis.

Aos meus avós maternos Nilson Rodrigues da Silva e Marluce Amélia da Silva que sempre estiveram ao meu lado, cuidando de mim e sempre me incentivando nos estudos, formação de caráter e personalidade. A minha mãe Wegna Rodrigues da Silva que criou a mim e ao meu irmão superando todas as adversidades e nos guiando sempre pelo melhor caminho. Ao meu pai João Vianez Ferreira e ao meu irmão João Victor Rodrigues Ferreira que sempre me apoiou e acreditou em mim. Ao meu namorado Dailson Veríssimo da Silva por todo apoio, ajuda, compreensão, cuidado e dedicação durante esses anos.

Agradeço especialmente a minha orientadora, professora e doutora Norma Buarque de Gusmão, por todo o conhecimento compartilhado no âmbito pessoal e profissional. Grata pela dedicação, paciência, cuidado e por ter aberto as portas do Laboratório de Microbiologia Ambiental e Industrial – LAMAI. Em especial, agradeço a minha co-orientadora Nicole Barrera, por ter me acolhido e se dedicado a me instruir e ampliar minha visão no âmbito laboratorial e por todo carinho e assistência depositada em mim. Mulher inspiradora.

Agradeço a Profa. Dra. Márcia Vanusa da Silva por me receber no Laboratório de Produtos Naturais e me proporcionar equipamento e assistência no método de extração do óleo essencial.

A Profa. Dra. Daniela Maria do Amaral Ferraz e ao Prof. Dr. Fábio Henrique Galdino dos Santos por dispor do cromatógrafo gasoso para caracterização do meu óleo essencial no Laboratório de Ecologia Química.

A Amanda Vieira de Barros e ao Patriky Érmerson Monteiro dos Santos pelo auxílio e assistências no método de extração.

E com muito carinho a todos os meus amigos do LAMAI que se tornaram pessoas especiais para mim e que presenciaram todo o meu processo. Chego até aqui com o coração cheio de gratidão e amor por ter a oportunidade de ter sido tão abençoada, conhecendo e tendo a oportunidade de conviver com todos vocês.

Apenas Gratidão!

SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	
1. INTRODUÇÃO	7
2. OBJETIVOS	8
3. REFERENCIAL TEÓRICO	8
3.1. Óleo Essencial (OE)	8
3.2. Espécie <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels	9
3.3. Bactérias multirresistentes	10
3.3.1. <i>Escherichia coli</i>	10
3.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	11
3.4. Cromatografia Gasosa	11
4. MATERIAIS E MÉTODOS	12
4.1. Material Vegetal e Coleta	12
4.2. Extração do Óleo Essencial	12
4.3. Teste de atividade antimicrobiana do OE de <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels frente a Bactérias Multirresistentes	13
4.4. Concentração do Óleo Essencial de <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels	14
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
5.1. Rendimento e Identificação do Óleo Essencial de <i>Syzygium cumini</i> (L.) Skeels.	15
5.2. Resultados dos Testes de Atividade Antimicrobiana	16
6. CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20

RESUMO

Plantas com propriedades medicinais são utilizadas em comunidades tradicionais, e seus conhecimentos são passados de geração em geração, trazendo benefícios a saúde humana. Por outro lado, a nanotecnologia avança em busca de novas técnicas e medidas de associação entre substâncias *in natura*. O presente estudo teve como objetivo, avaliar a ação antibacteriana do óleo essencial extraído das folhas da *Syzygiumcumini* (L.) Skeels (jambolão) frente às bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* multirresistentes prevendo futuras associações que agreguem desenvolvimento de bioprodutos e até mesmo estratégias de nanodispositivos. As folhas de *S. cumini* (jambolão) foram coletadas entre o Centro de Artes e Comunicação e o Centro de Tecnologia da UFPE e o material foi depositado no Herbário Geral Mariz-UFPE. O óleo essencial foi extraído das folhas frescas, através da técnica de hidrodestilação com auxílio do aparelho tipo Clevenger, teve um rendimento 0,7% ml e sua caracterização química, através da Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectrômetro de Massas (CG-EM), forneceu como constituintes majoritários o α -pineno (28,46%), (Z)- β -ocimeno (25,64%) e (E)- β -ocimeno (11,91%). Para a detecção da atividade antimicrobiana, foi utilizado o teste de micro diluição em placa (96 poços) utilizando o óleo essencial do jambolão, neste teste foram incluídos os controles: meio de cultura Mueller Hinton (esterilidade do meio), crescimento da bactéria, o solvente e os antibióticos de referências para as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* multirresistentes. Na análise cromatográfica foram identificados 37 compostos com predominância dos terpenos e monoterpenos. O óleo essencial de *Syzygium cumini* apresentou uma concentração inibitória e bactericida mínima frente cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* multirresistentes. Os resultados mostraram dados positivos e significativos para *S. aureus* e para *E. coli*. Este trabalho demonstrou que o desenvolvimento de estratégias além das tradicionais, o desenvolvimento de bioprodutos que atuem agregando valor e retorno sustentável a natureza, as indústrias agropecuárias, a economia e a saúde têm-se intensificado, e associar óleos essenciais como o do jambolão, pode favorecer e impactar amplamente a vida do ser humano em variados âmbitos.

Palavras-chave: bioprospecção; aminoácidos; compostos bioativos; terpenos.

ABSTRACT

Plants with medicinal properties are used in traditional communities, and their knowledge is passed down from generation to generation, bringing benefits to human health. On the other hand, nanotechnology advances in search of new techniques and measures of association between in natura substances. The present study aimed to evaluate the antibacterial action of the essential oil extracted from the leaves of *Syzygium cumini* (L.) Skeels (jambolan) against multiresistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria, predicting future associations that add to the development of bioproducts and even nanodevice strategies. The leaves of *S. cumini* (jambolão) were collected between the Centro de Artes e Comunicação and the Centro de Tecnologia da UFPE and the material was deposited in the Herbarium Geral Mariz-UFPE. The essential oil was extracted from fresh leaves, through the hydrodistillation technique with the aid of the Clevenger type apparatus, had a yield of 0.7% ml and its chemical characterization, through Gas Chromatography coupled to the Mass Spectrometer (GC-MS), provided as major constituents α -pinene (28.46%), (Z)- β -ocymene (25.64%) and (E)- β -ocymene (11.91%). For the detection of antimicrobial activity, the plate micro dilution test (96 wells) was used using jambolan essential oil, in this test the controls were included: Mueller Hinton culture medium (sterility of the medium), bacterial growth, the solvent and reference antibiotics for multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. In the chromatographic analysis, 37 compounds were identified with a predominance of terpenes and monoterpenes. *Syzygium cumini* essential oil showed a minimal inhibitory and bactericidal concentration against multidrug-resistant *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains. The results showed positive and significant data for *S. aureus* and for *E. coli*. This work demonstrated that the development of strategies beyond the traditional ones, the development of bioproducts that act adding value and sustainable return to nature, the agricultural industries, the economy and health have intensified, and associating essential oils such as jambolan, can favor and widely impact the life of human beings in various areas.

Keywords: bioprospecting; amino acids; bioactive compounds; terpenes.

1. INTRODUÇÃO

Comunidades tradicionais (quilombolas e indígenas entre outras) nos revelam e fornecem uma diversidade de informações sobre as propriedades naturais de plantas que auxiliam na medicina, terapias, fármacos ecossméticas, sendo assim, consideradas fortes aliadas do ser humano (SAHU et al., 2020).

Este aprendizado do cotidiano de civilizações pioneiras, povos indígenas, de suas vivências e interações ser humano e natureza, desde observações a experimentos, obtendo assim, resultados positivos. Esse conhecimento foi adquirido por essas civilizações pioneiras a partir de experiências e observações do cotidiano dessas comunidades e repassadas de geração em geração.

Do ponto de vista científico, associam este saber com a bioprospecção, que compreende a exploração racional e econômica dos recursos naturais com o intuito de detectar propriedade ativas que auxiliem no desenvolvimento de bioprodutos que gerem retorno nas indústrias farmacêuticas, biotecnológicas, agropecuárias, avanços na medicina e, principalmente, retornos positivos as comunidades tradicionais (LIMA, 2022). A Bioprospecção é uma forma de agregar valor à grande biodiversidade existente no planeta terra com fins comercialmente biotecnológicos e econômicos.

Pesquisas retratam a busca e o sucesso da potencialidade e a eficácia das plantas medicinais no combate a diversas doenças, entretanto existem sérios problemas em relação ao uso indiscriminado de produtos de origem vegetal e sintéticos. No mesmo ponto de vista o mal uso de antibióticos tornou-se um dos problemas atuais, desde a ingestão ao descarte indevido dessas substâncias (SANTOS, 2020).

Plantas com princípios bioativos ainda são destaque nas indústrias farmacêuticas na extração e óleos essenciais provenientes de propriedades antimicrobianas e antioxidantes. O Jambolão, cientificamente, *Syzygium cumini* (L.) Skeels se destaca por seus mais variados órgãos serem utilizados para extração de óleos essenciais e extratos. De acordo com UCKER (2016) óleos essenciais extraídos de folhas e sementes de jambolão apresentaram atividade antimicrobiana frente a *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Trichoderma* spp. e *Rizhopus* spp.

Antimicrobianas são substâncias que inibem o crescimento de microrganismos, causam distúrbios em seu organismo desativando seu mecanismo de ação chegando a causar até mesmo a morte celular. Sua composição pode ser de origem sintética ou natural. Com o aumento da resistência dos microrganismos aos antimicrobianos, as indústrias estudam e pesquisam a obtenção de novos antimicrobianos naturais com potencial para diminuir a resistência (RAMOS et al., 2007).

Com essas informações e por meio de observações em relações ao aroma que as plantas possuem, está pesquisa visou a extração do óleo essencial das folhas da *S. cumini* (L.) Skeels por meio da técnica de hidrodestilação e caracterizar a composição química presente no óleo, através da técnica de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (ALMEIDA, 2019).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

- Avaliar a atividade antimicrobiana do óleo essencial da *Syzygium cumini* (L.) Skeels e identificar os componentes majoritários responsáveis pela atividade antimicrobiana presentes nas folhas frescas frente bactérias multirresistentes.

2.2 Objetivos Específicos

- Extrair os óleos essenciais das folhas de jambolão (*Syzygium cumini*);
- Determinar a composição química do óleo essencial das folhas de jambolão;
- Avaliar o potencial antimicrobiano e antioxidante do óleo essencial de folhas de jambolão.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. ÓLEO ESSENCIAL (OE)

Os OEs constituem uma estrutura complexa, apresentando componentes hidrofóbicos e imiscíveis em água (BIZZO; HOVELL; REZENDE, 2009). Estes metabolitos secundários das plantas são: terpenos, terpenóides, flavonas e flavonóides, alcoóis, aldeídos, éter, entre outros derivados. Os OEs são líquidos e comumente apresentam alguma unidade aromática, encontradas nos mais variados órgãos da estrutura das plantas, variando sua composição a depender da espécie,

clima, tempo, zona demográfica e condições biológicas, (BURT, 2004; SOLÓRZANO-SANTOS; MIRANDA-NOVALES, 2012).

O óleo essencial é uma substância extraída de plantas, caracterizadas como produto natural, aromático e volátil, possui propriedades para a saúde, culinária e controle de pragas, sendo usado na indústria de cosméticos, farmacêutica, dentre outras.

Em relação aos óleos essenciais do jambolão, as substâncias majoritárias encontradas são o terpeno α -Pinoeno, e monoterpenos E- β -Ocimene e Z- β -Ocimene, entre outros, ambos com alto índice de atividade antimicrobiana ((ALMEIDA, 2019). Os óleos extraídos de alguns órgãos desta espécie apresentam atividade antibactericida, tanto contra bactérias Gram-positivas quanto contra bactérias Gram-negativas (ELPHADILE et al, 2015).

3.2. ESPÉCIE *Syzygium cumini* (L.) Skeels

O jambolão, cientificamente chamada *Syzygium cumini* (L.) Skeels, da classe Magnoliopsida de Ordem Myrtales, pertencente à Família Myrtaceae. As folhas do jambolão são descritas com propriedades farmacológicas com atividades antidiabéticas, antibactericida, além dos seus demais órgãos conter substâncias com ações: antivirais, anti-inflamatórias, antibacteriana, antidiarreica, antialérgicas e anticarcinogênica (SAHU et al., 2020).

São árvores altas e robustas, atingem aproximadamente 10 metros de altura e farta em folhagem. Fornece sombra, moradia e frutos para animais e humanos. Seus frutos são carnosos, sua coloração é roxa (libera corante) e possui de formato oval chegando a atingir 3 a 4 cm de comprimento e 2cm de diâmetro. Seu caule é do tipo reto e lenhoso além do sabor doce e ácido, apresenta uma leve adstringência em sua polpa carnosas (MIGLIATO et al., 2006).

De janeiro a maio é o período de frutificação, em formação inicial de cor branca, e mudando o grau de maturação, ocorre mudança de cor para vermelha, e quando maduro, apresenta coloração roxa quase preta. Apresenta apenas uma semente que é revestida pela polpa carnosas (BRASIL, 2015)

Alguns estudos retratam que *S. cumini* (L.) Skeels possui propriedades provenientes de proteção contra algumas pragas. De acordo com MIGLIATO (2006), o jambolão possui substâncias bioativas terapêuticas, anti-inflamatória, antidiarreica, anticonvulsivante, no tratamento de diabetes, atividade antibiótica, antiemético, bactericida, e muitas outras eficiências que ficam a depender do órgão da planta utilizado em estudos. Segundo Vizzotto e Pereira (2008), os órgãos da planta (*S. cumini*) como as cascas do caule possuem substâncias bioativas que atuam no controle da diabetes, seus frutos possuem ação antioxidante, hipoglicemiante e anticarcinogênica, e as folhas possuem capacidade de controlar a diabetes, além de possuírem ações antivirais, anticarcinogênica, anti-inflamatória e antibacteriana.

Essa espécie é originária da Índia e apresentam alto índice de adaptação aos mais variados tipos de solo. Destaca-se por ser bastante utilizado na medicina popular, desde sua raiz, caule, folhas, flores, frutos e sementes.

No Brasil, esta espécie é muito bem aclimatada (ANDRADE, 2004). Partes da planta de *S. cumini* são extraídas com finalidades medicinais e culinárias tradicionalmente, devido a presença de terpenos em sua composição, os frutos do jambolão apresentam sabor adocicado e ácido, e podem ser usadas como aditivos alimentares e farmacêuticos (FOREZI et al, 2022; ROCO; MIRKIN; HERSAM, 2011).

3.3 BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES

As bactérias resistentes usadas no presente estudo, foram cedidas pela Coleção de Microrganismo do Departamento de Antibióticos da UFPE. Foram as cepas de *Escherichia coli* (UFPEDA 1020B) e *Staphylococcus aureus* (UFPEDA 709).

3.3.1. *Escherichia coli*:

Bactérias Gram negativas, pertencente à família Enterobacteriaceae, são encontradas na microbiota entérica de animais, inclusive o homem. Podem ser encontradas em alimentos como leite e produtos refrigerados (CAMPOS et al., 2006). São microrganismos patogênicos, e sua linhagem pode ser dividida em seis grupos: enteroinvasoras, enterohemorrágicas, enteroagregativas, enteropatogênicas, enterotoxigênicas e de aderência difusa, subdivididas por sua habilidade de invasão celular, produção de toxinas e reação dos sinais clínicos nos animais e no ser humano (RIBEIRO et al., 2006).

3.3.2. *Staphylococcus aureus*.

São bactérias Gram positivas, pertencente à família Micrococcae, bem como os gêneros *Stomatococcus*, *Micrococcus* e *Planococcus* (SANTOS et al., 2007) em formato de cocos, podendo medindo entre 0,5-1,5 µm de diâmetro, imóveis sem formação de esporos, raramente possuem cápsula. Possuem diversas morfologias, podendo estar solitária, em par, em pequenas cadeias ou em conjunto, derivada da divisão celular que é feita em três planos verticais. Seu gênero é composto por 49 espécies e 26 subespécies (EUZÉBY, 2015), algumas delas com a probabilidade de ser isolada de amostras biológicas humanas, sendo o *Staphylococcus aureus* a espécie de maior interesse fármaco e medicinal por estar normalmente envolvida com infecções em seres humanos em casos intoxicação alimentar (SANTOS et al., 2007).

Estas bactérias são presentes naturalmente na pele e no trato respiratório (da face) em humanos. Geralmente envolvido com casos de intoxicação alimentar, causando náuseas, diarreia e vômitos (MADIGAN et al., 2010). Métodos alternativos vêm sendo pesquisados para inibir a presença desse microrganismo, Packer e Luz (2007) avaliaram o potencial antimicrobiano de alguns óleos essenciais (copaíba, alecrim, melaleuca, alho, andiroba e própolis) frente *S. aureus*, obtendo resultados satisfatórios. Seguindo o mesmo objetivo, Martucci et al. (2015) analisaram o potencial antimicrobiano do óleo essencial do orégano e da lavanda para inibir a atividade desta bactéria e concluíram que esses óleos possuem alta qualificação de propriedades antimicrobianas, inibindo o desenvolvimento de *S. aureus*.

3.4. CROMATOGRAFIA GASOSA

A cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massa é utilizada para a determinação de compostos voláteis, comparando padrões, para auxiliar na identificação dos compostos (ALMEIDA; COSTA).

A cromatografia gasosa é um dos métodos mais utilizados para caracterizar componentes de óleos essenciais. A resolução é de alta qualidade, necessitando apenas de uma pequena quantidade de amostra para detectar inúmeras substâncias contidas no mesmo (GAMA et al. 2017).

4. MATERIAIS E MÉTODOS:

4.1. MATERIAL VEGETAL E COLETA

A folhas frescas de *S. cumini*(L.) Skeels foram coletadas próximo ao estacionamento do centro de artes e comunicação – CAC e o Centro de Tecnologia e Geociências – CTG da Universidade Federal de Pernambuco, ao final da avenida dos Reitores. Seguindo as seguintes coordenadas geográficas, latitude: 8.0518775, longitude: -34.9534284. Após coleta, a espécie foi identificada no herbário Prof. Geraldo Marizda UFPE e protocolada com o número UFP 89.692.

Figura 1. Fotografia de partes da planta de *S. cumini* e a árvore que foi realizada a coleta.



A

B

C

Legenda:(A) Ramos com flores *in natura*;(B) material herborizado e (C)Árvore onde foi realizada a coleta.

4.2. EXTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

A extração do óleo essencial da *S. cumini* (L.) Skeels, foi realizada no Laboratório de Produtos Naturais do Centro de Biociências (CB) da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

As folhas foram coletadas por volta do meio-dia em 30 de agosto de 2022. Para a extração, as folhas foram lavadas com água destilada, depois de secas com auxílio de papel toalha e foram pesadas em balança semi analítica.

O óleo essencial foi extraído pelo método de hidrodestilação, utilizando Clevenger (OLIVEIRA EVERTON e outros, 2020).

Para a extração do OE foram adicionados 734,26g das folhas trituradas em 3 L de água destilada, em seguida, o material foi aquecido até atingir o ponto de ebulição. O processo de extração foi de 2 h e 40 min, (Figura 2).

O óleo foi tratado com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) para retirada da água residual.

Figura 2. Processo de extração do óleo essencial de *S. cumini*, por método de hidrodestilação.



Legenda: Primeira fotografia da esquerda: colocação da água; fotografia central: Sistema em funcionamento e terceira fotografia à direita: medição com uma régua do volume de água.

4.3. TESTE DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Syzygiumcumini* FRENTE A BACTÉRIAS MULTIRESISTENTES

O teste da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizado utilizando as bactérias multiresistentes *Staphylococcus aureus* UFPEDA709 e *Escherichia coli* UFPEDA1020B e as bactérias foram repicadas em meio ágar BHI 24h antes dos ensaios.

Para o ajuste da suspensão bacteriana foi realizada a leitura em espectrofotômetro de UV/VIS, com a absorbância entre 0,08 a 0,13 que corresponde a escala de McFarland 0,5.

A CIM foi realizada seguindo o protocolo do CLSI (2020), que preconiza o caldo Mueller Hinton como meio de cultura. Em todos os poços da microplaca (96 poços) foram colocados 100µL (Exceção da coluna 1 que foi colocado 180µL). Para o teste foram utilizados o óleo essencial de *S. cumini*, controles de esterilidade do meio de cultura, antibiótico de referência para a bactéria Gram positiva (oxacilina 360 µg/ml), antibiótico de referência para as bactérias Gram negativa (gentamicina 360 µg/ml), o dispersante Tween 80 e o controle de crescimento das bactérias sem as substâncias. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Depois de 24 h foi realizada a leitura da CIM, além da adição de 10 µl de Resazurina, o que equivale a 0,1% em cada poço. Em sequência, a microplaca foi coberta com papel alumínio e incubada em estufa do tipo B.O.D por 2 h. Depois desse intervalo de tempo foi observado a mudança de coloração, sendo a coloração azul um indicativo para células mortas e a coloração rosa um indicativo para células viáveis.

4.4. CONCENTRAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Syzygium cumini* (L.) Skeels

Os testes de diluição do OE de *Syzygium cumini* a solução foi preparada em microtubos (tipo Eppendorf), sendo transferidos 60µL do OE para 60µL de solução de Tween80.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

O óleo essencial das folhas frescas do jambolão apresentou atividade antimicrobiana frente às bactérias multirresistentes (*S. aureus* e *E. coli*). O OE apresentou como principais constituintes o terpeno e os monoterpenos, somando 66,01% de 99,57% do total de 37 compostos.

5.1. RENDIMENTO E IDENTIFICAÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Syzygium cumini* (L.) Skeels

O rendimento foi de 0,7ml/800g de folhas de de *Syzygium cumini* (L.) Skeels., o que corresponde a 0,10% do total de substâncias encontradas na planta. Em Cromatografia Gasosa acoplada ao espectro de massa foi possível detectar 99.57% do OE do jambolão, resultando na presença de 37 compostos (tabela 1).

Os componentes majoritários foram: terpenos α -Pinene (28,46%) e os monoterpenos (Z)- β -ocimene (25,64%) e (E)- β -ocimene (11,91%), somando o percentual desses componentes, no total de 66.01% predominando a composição. Dentre os componentes listados, estes terpenos apresentam alta ação antimicrobiana e antibacteriana em relação aos demais. Estes valores apresentam semelhança com alguns resultados encontrados na literatura. Semelhantemente, o α -Pinene é o mais abundante nos resultados de Almeida (2021). Os mesmos três compostos majoritário, são encontrados nos resultados de Dias et al. (2013) diferindo apenas na ordem, pois o α -pineno também foi o mais abundante.

Tabela 1. Componentes do Óleo Essencial extraído das folhas da *Syzygium cumini* (L.) Skeels

Nome	RT	IKL	IKC	%
Hexenal<(2E)->	6,38	855	849	0,68
Hexenol<(3Z)->	6,48	859	852	0,65
Hexanol<n->	6,93	870	865	0,11
Pinene<alpha->	9,12	939	928	28,46
Camphene	9,60	954	941	1,05
Pinene<β->	10,64	979	971	5,69
Myrcene	11,27	990	989	3,82
Hexenylacetate<(3E)->	11,89	1002	1007	0,18
Terpinene< α ->	12,16	1017	1015	0,15
Cymene<p->	12,47	1024	1023	0,11
Limonene	12,62	1029	1028	5,75
Ocimene<(Z)-β->	13,10	1037	1041	25,64
Ocimene<(E)-β->	13,45	1050	1051	11,91
Terpinene< γ ->	13,78	1059	1061	0,58
Mentha-2,4(8)-diene<p->	14,86	1088	1092	1,01
Linalool	15,32	1096	1105	0,1
Fenchol<endo->	15,76	1116	1117	0,25

Continua

Ocimene<allo->	16,41	1132	1136	0,23
Ocimene<neo-allo->	16,84	1144	1148	0,07
Camphenehydrate	17,02	1149	1153	0,17
Borneol	17,68	1169	1172	0,11
Terpinen-4-ol	18,11	1177	1184	0,3
Terpineol < α ->	18,61	1188	1199	4,34
Fenchylacetate<endo->	19,66	1220	1229	0,35
Bornylacetate	21,94	1285	1294	1,37
Pinocarvylacetate<trans->	22,36	1298	1306	0,04
Caryophyllene(E-)	26,33	1419	1419	3,89
Arbozol	26,89	1434	1435	0,09
Humulene< α ->	27,39	1454	1449	1,9
Aromadendrene<allo->	29,49	1460	1509	0,18
Caryophyllenylalcohol	30,88	1572	1549	0,09
Caryophyllene oxide	31,26	1583	1560	0,2
Humuleneepoxide II	32,01	1608	1581	0,1
			Total:	99,57

Legenda: RT- tempo de retenção; IKL- Índice de Kovarts; IKS-Índice de Kovarts calculado; % - Percentual

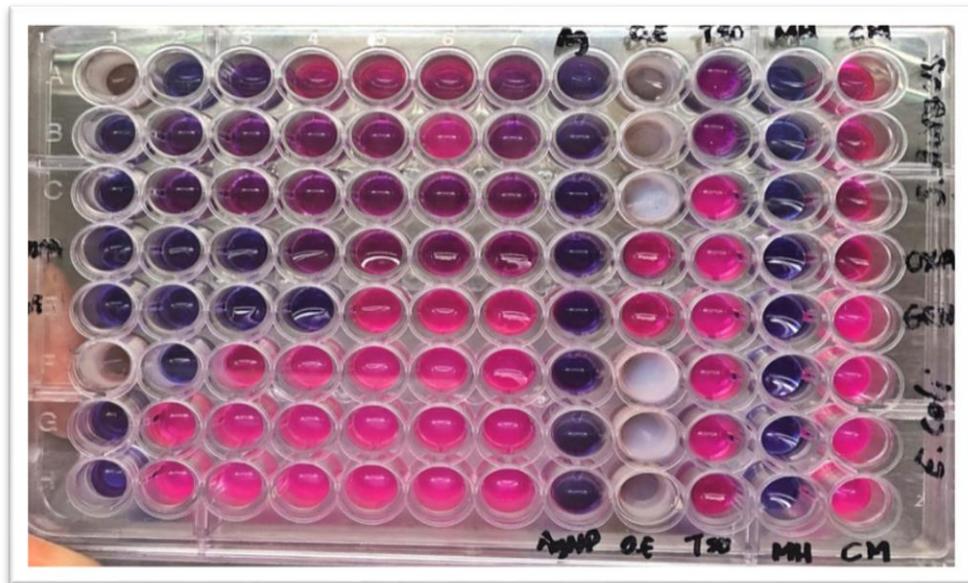
5.2. Resultados dos Testes de Atividade Antimicrobiana

As figuras 6, 7, 8 e 9 ilustram os resultados da determinação da concentração mínima inibitória (CIM) e da concentração mínima bactericida (CBM) e na tabela 2 os resultados da CIM. Considerando que quanto mais próximo os valores das variáveis CIM e CBM, mais eficiente é a ação antibiótica do produto.

A bactéria *Staphylococcus aureus* (UFPEDA709) e *Escherichia coli* (UFPEDA1020B) não apresentaram crescimento na coluna 8 e na coluna 9 (OE). Em sequência, as colunas 10 (controle do solvente Tween80), a coluna 11 (esterilidade do meio de cultura Mueller Hinton) e coluna 12 (controle de crescimento bacteriano), apresentaram crescimento microbiano normal (Figura 6).

Nas condições testadas, o antimicrobiano apresentou baixa atividade antibacteriana frente a cepa de *E. coli* (UFPEDA1020B) com CIM e CBM igual a 5,75 $\mu\text{g/ml}$, (concentração inicial), obtendo susceptibilidade maior ao antimicrobiano. Em condições testadas frente a cepa de *S. aureus* (UFPEDA709), o antimicrobiano apresentou susceptibilidade maior ao crescimento bacteriano, com CIM e CBM igual a 2,87 $\mu\text{g/ml}$.

Figura 3. Concentração Inibitória Mínima do óleo essencial de *Syzygium cumini*, das nanopartículas de prata e da adição das duas substâncias frente a *Staphylococcus aureus* (UFPEDA709) e *Escherichia coli* (UFPEDA1020B) em microplaca (96 poços) revelados com rezasurina (0,01%).



Legenda: **OXA** (Oxacilina); **GEN** (Gentamicina); **corazul** (sem crescimento bacteriano); **corrosa** (com crescimento bacteriano); **OE** (controle oleo essencial); **T80** (controle solução do solvente Tween80); **MH** (controle do meio de cultura Mueller Hinton); **CM** (controle crescimento microbiano).

Figura 4. Concentração Inibitória Mínima Bactericida das substâncias óleo essencial de *Syzygium cumini*, das nanopartículas de prata e da adição das duas substâncias frente a *Staphylococcus aureus* (UFPEDA709) e *Escherichia coli*(UFPEDA1020B)



Legenda: **(A)** CBM frente à cepa 709 (UFPEDA), onde A1, B1, C1 tiveram crescimento menor que 50% em relação ao controle A12, B12, C12; **(B)** Crescimento microbiano controle; **(C)** CBM frente à cepa 1020B (UFPEDA), onde F1, G1, H1 tiveram crescimento menor que 50% em relação ao controle F12, G12, H12.

Tabela 2. Resultado da Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM) da potencialização das nanopartículas de prata mais o óleo essencial de *Syzygium cumini* e os valores do antimicrobiano de referência para cada uma das bactérias.

Bactéria	CIM e CBM	Antibiótico Padrão	CIM
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFPEDA709)	2,87µg/ml	Oxacilina	9 µg/ml
<i>Escherichia coli</i> (UFPEDA1020B)	5,75 µg/ml	Gentamicina	4,5 µg/ml

Legenda: **CIM** (concentração mínima inibitória); **CBM** (concentração mínima bactericida).

Figura 5. Resultados da Concentração Bactericida Mínima frente as bactérias multirresistentes *Staphylococcus aureus* (UFPEDA709) e *Escherichia coli* (UFPEDA1020B)



Legenda: Resultado em triplicata. (A) Placa com crescimento bacteriano da cepa de *E. coli* em fração das diluições inoculadas comparadas com a placa controle (B), F12, G12, H12; (C) placa com crescimento bacteriano de cepa de *S. aureus* em fração das diluições inoculadas comparadas com a placa controle (B), A12, B12, C12.

Figura 6. Resultado da Concentração Bactericida Mínima frente *Staphylococcus aureus* (UFPEDA709) e *Escherichia coli* (UFPEDA1020B)



Legenda: (A) inibição do crescimento bacteriano de *S. aureus* (UFPEDA709) por atividade do antimicrobiano; (B) crescimento bacteriano controle; (C) inibição do crescimento bacteriano de *E. coli* (UFPEDA1020B) por atividade do antimicrobiano.

Para poder inibir a presença desta bactéria pode-se aplicar óleo essencial de diferentes plantas, como o obtido das folhas de *S. cumini* (L.) Skeels, que mostrou ser um bom agente antibacteriano, assim como o óleo essencial de outras plantas com ação inibitória ao desenvolvimento desses microrganismos (FERRONATTO et al., 2007).

O intuito de contribuir para o desenvolvimento de novos bioprodutos que agregue valor a biodiversidade e traga retorno no ramo das indústrias farmacêuticas, medicinais e alimentícias, como a ciência busca por métodos de podem potencializar a ação de compostos bioativos presentes em óleos essenciais, extraídos de plantas, prover diferentes descobertas, desde estratégia de sínteses químicas verde até ações sustentáveis, à qualificação de produtos finais, promovendo estabilidade aos princípios ativos naturais (LARANJEIRA, 2017).

6. CONCLUSÃO

O uso inadequado dos medicamentos (antibióticos), assim como automedicação, traz uma alta probabilidade de causar seriados efeitos adversos e colaterais, como reações alérgicas, intoxicações graves em órgãos internos e externos, nas biodiversidades. Portanto, muitos relatos desta categoria de problemas são menos freqüentes em relação ao consumo e emprego de fitoterápicos, ainda assim, é significativo o levantamento de pesquisas em plantas para que possibilitem o desenvolvimento de estratégias e recursos para novos fármacos, como também

fornecer aos possíveis usuários os riscos e benefícios dessa espécie, de suas associações ou de seu emprego em bioprodutos finais.

Foi possível entender que devido o potencial antimicrobiano, os óleos essenciais de jambolão podem ser utilizados como conservantes naturais, ser associados a nanoencapsulamentos, agregado em sínteses verdes, entre outras estratégias que ampliem o método científico no desenvolvimento de dispositivos e nanodispositivos que possam proteger e estabilizar o princípio ativo dos produtos finais. Como foi possível observar a atividade antimicrobiana frente a *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Obteve-se alta eficiência do OE, os resultados foram confirmados pela técnica de microdiluição em placa (96 poços). Obteve-se potente inibição frente aos microrganismos avaliados.

Contudo, o objetivo do teste foi alcançado com exatidão na extração do óleo essencial das folhas frescas do jambolão, apresentando os componentes majoritários com alto potencial antimicrobiano, sustentando a probabilidade de um novo meio estratégico capaz de agregar sustentabilidade, retorno econômico e medicinal, eficaz na prevenção e remediação de doenças.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, 2019. **Composição química do óleo essencial das folhas da azeitona roxa** (*Syzygium cumini*). (Almeida, 2019) Disponível em: <<https://repositorio.ufersa.edu.br/handle/prefix/4260>>. Acesso em: 12 de Abril. 2023.

BASTIAN, L. F. **Óleos essenciais como conservante de alimentos: uma breve revisão bibliográfica**. [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 13 jun. 2022.

MIGLIATO, K. F. et al. **Ação Farmacológica de *Syzygium cumini* (L.) Skeels**. Disponível em: <>. Acesso em: 4 maio. 2023.

SANTOS, R. H. G. DOS. **Composição e atividade biológica do óleo essencial foliar de Calyptranthesdardanoi Mattos (Myrtaceae) ocorrente na Floresta Atlântica e Caatinga.** [s.l.] Universidade Federal de Pernambuco, 17 fev. 2020.

UCKER, C. D. L. **Óleo essencial de sementes e folhas de Syzygium cumini e óleo desodorizado de Melaleucaalternifolia: potencial antimicrobiano e antioxidante.** [s.l.] Universidade Federal de Pelotas, 19 out. 2016.

XAVIER, L. D. **Avaliação da atividade antifúngica do óleo essencial de Syzygium cumini.** [s.l.] Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 17 jun. 2019.

ALMEIDA, CS; COSTA, C.2021. **COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DAS FOLHAS DA AZEITONA ROXA (Syzygiumcumini)** . Disponível em: <https://repositorio.ufersa.edu.br/bitstream/prefix/4260/2/CinthiaSA_ART.pdf>. Acesso em: 7 Mar. 2023.

ANDRADE, P. et al 2004. **Estudo farmacognóstico do jabolão Syzygiumcumini (L.) SkeelsMyrtaceae** . Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9138/tde-27022015-095201/publico/AndreaARuggiero_M.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2023.

BIZZO, RH; HOVELL, AMC; REZENDE, CM **Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. Química nova** , v. 32, n. 3, pág. 588–594, 2009.

BURT, S. **Óleos essenciais: suas propriedades antibacterianas e potenciais aplicações em alimentos - uma revisão. Jornal internacional de microbiologia alimentar** , v. 94, n. 3, pág. 223–253, 2004.

CHIARADIA et al. **O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. Quím. Nova** 31 (3), 2008.

DAUDT, RM et al. A nanotecnologia como estratégia para o desenvolvimento de cosméticos. **Ciência e cultura**, v. 65, n. 3, pág. 28–31, 2013. Acesso em 14/12/2022.

ELPHADILE AG, AwadAbadalfattahKaramallah, Ahmed Mahgoub, Abed Alaziz. Atividades antimicrobianas de *Syzygiumcumini* extratos contra microrganismos selecionados. **Nova Revista de Ciências Médicas e Biológicas**. 2015; 4(2):1-8

GAMA P. E. et al, 2017. **Automação de Planilhas Eletrônicas para o Cálculo de Índices de Retenção na Análise de Óleos Essenciais**. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1081899/1/CT226final.pdf>>. Acesso em: 20 abr. 2023.

LARANJEIRA, S P, 2017. **Nanoencapsulamento de Óleo Essencial de *Rosemarinus Officialis* com PEG**. Disponível em: <https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/5846/1/5098_10053.pdf>. Acesso em: 20 abr. 2023.

LIMA, CR DE. **Bioprospecção de microrganismos e plantas como ferramenta de desenvolvimento sustentável nas ciências farmacêuticas. 2022**. Disponível em: <<https://riu.ufam.edu.br/bitstream/prefix/6149/7/TC.%20CamilaLima.pdf>> acessado em 18/05/2023

OJO, OA et al. Síntese mediada pela rota verde de nanopartículas de prata (AgNPs) de extratos de folhas ricas em polifenólicos de *Syzygiumcumini* (L.) Skeels e investigação de sua atividade antimicrobiana. **NanobiotecnologiaET**, v. 12, n. 3, pág. 305–310, 2018.

OLIVEIRA EVERTON, G. et al. Caracterização química, atividade antimicrobiana e toxicidade dos óleos essenciais da *Pimenta dioica* L. (pimenta da Jamaica) e *Citrus sinensis* L. Osbeck (laranja doce). **Revista Colombiana de Ciências Químico Farmacêuticas**, v. 49, n. 3, pág. 641–655, 2020.

PALUMBO, M. et al., "Improved antioxidant effect of idebenone-loaded polyethyl-2-cyanoacrylate nanocapsules tested on human fibroblasts". **Pharmaceutical Research**, vol.19, nº71. 2002.

SAHU, PP et al. Benefícios para a saúde de Jamun (*Syzygiumcumini*) uma fruta subutilizada: um raio no campo da nanotecnologia. **Jornal de farmacognosia e fitoquímica** , v. 9, n. 5S, pág. 74–80, 2020.

SCHAFFAZICK, S. R.; POHLMANN, A. R.; de CORDOVA, C. A. S.; CRECZYNSKI-PASA, T. B.; Guterres, S. S. "Protective properties of melatonin-loaded nanoparticles against lipid peroxidation". **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 289, nº 209. 2005.

SM FOREZI, L. et al. Há Química Aqui: Parte IV. Terpenos em perfumaria. **Revista Virtual de Química** , v. 14, n. 6, pág. 1005–1024, 2022.

SOLÓRZANO-SANTOS, F.; MIRANDA-NOVALES, MG Óleos essenciais de ervas aromáticas como agentes antimicrobianos. **Parecer atual em biotecnologia** , v. 23, n. 2, pág. 136–141, 2012.

UCKER, Carla Daiane Lubke. **Óleo essencial de sementes e folhas de *Syzygium cumini* e óleo desodorizado de *Melaleucaalternifolia*: Potencial antimicrobiano e antioxidante**. 2016. 169 f. Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2016.

RAMOS, et al. **Antimicrobianos em Ginecologia e Obstetrícia**. Porto Alegre: Artmed, 2007, 373 p.

CAMPOS, M. R. H., et al. **Caracterização Fenotípica pelo Antibiograma de Cepas de *Escherichia coli* Isoladas de Manipuladores, de Leite Cru e de Queijo —Minas Frescall em um Laticínio de Goiás, Brasil**. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.36, n.4, p.1221-1227, 2006.

RIBEIRO, M. G., et al. **Fatores de virulência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina**. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* Belo Horizonte, v.58, n.5, 2006.

FERRONATTO, R., et al. **Atividade Antimicrobiana de Óleos Essenciais Produzidos por Baccharisdracunculifolia D.C. e Baccharisuncinella D.C. (Asteraceae).** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, n. 17,

SANTOS, A. L. et al. **Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar.** *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007. **p. 224-230, 2007.**

EUZÉBY, J. P. **List of Bacterial names with Standing in Nomenclature.** 2015. Disponível em: <<http://www.bacterio.cict.fr/s/staphylococcus.htmL>>. Acesso em: 10 jan. 2022.

MADIGAN, M. T., et al. **Microbiologia de Brock.** 12 ed. Porto Alegre: **Artmed, 2010. 1126 p.**

PACKER, J. F.; LUZ, M. M. S. **Método para Avaliação e Pesquisa da Atividade Antimicrobiana de Produtos de Origem Natural.** *Revista Brasileira de Farmacognosia*, n. 17, p. 102-107, 2007.

MARTUCCI, J. F. et al. **Oregano and Lavender Essential Oils as Antioxidant and Antimicrobial Additives of Biogenic Gelatin Films.** *Industrial Crops and Products*, v. 71, p. 2

MIGLIATO, K. F. et al. **Ação Farmacológica de Syzygium cumini (L.) Skeels.** *Acta Farm. Bonaerense*, n.25, p. 310-314, 2006. **05–213, 2015.**

BRASIL, Ministério da Saúde. **Alimentos Regionais Brasileiros.** 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 486 p.

VIZZOTTO, M., PEREIRA, M. C. **Caracterização das Propriedades Funcionais do Jambolão.** *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento* 79. Pelotas: EMBRAPA, 2008. 27 p.

DUARTE, A. R. Composição e variabilidade química dos óleos essenciais das folhas e frutos de *Eugenia dysenterica*. 2008.

ALMEIDA, A. M. S. DE. **Composição química e atividade acaricida do óleo essencial das folhas de *Syzygium cumini* (Myrtaceae)**. [s.l.] Brasil, 15 jul. 2021.

DIAS, C. L.; RODRIGUES, K. A. F.; CARVALHO, F. A. A.; CARNEIRO, S. M. P.; MAIA, J. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; MORAES, D. F. C. **Molluscicidal and Leishmanicidal Activity of the Leaf Essential Oil of *Syzygium cumini* (L.) Skeels from Brazil**. *Chemistry & Biodiversity*, v. 10, 2013.