



# DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO ÓLEO ESSENCIAL DO HO-SHO (*CINNAMOMUM CAMPHORA* NEES & EBERM)

V. Astolfi; L. R. Borges; I. L. Rovani; R. L. Cansian; A. Mossi; N. Paroul; G. Toniazzo.

Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões-Campus de Erechim, Departamento de Ciências Biológicas / Ecologia. Avenida Sete de Setembro nº 1621, Centro, Cep: 99700-000. Erechim, RS.

## INTRODUÇÃO

No Brasil, o linalol é extraído da espécie *Aniba duckei* Kostermans, conhecida popularmente como pau-rosa, árvore nativa da Amazônia e incluída pelo IBAMA na lista de espécies sob risco de extinção. Para que sejam produzidas 50 toneladas desse óleo, é necessário o corte de cerca de duas mil árvores por ano, e deveria ser compensada com o replantio de 80 mudas de pau-rosa. Porém, isso não acontece porque as mudas são escassas e, conseqüentemente, caras. Outros problemas são a falta de técnicas de plantio e o longo período de maturação das plantas para corte, mais de 25 anos. Várias pesquisas estão sendo realizadas tendo como objetivo encontrar outras espécies ricas em linalol. A descoberta delas pode representar a salvação pau-rosa.

Uma alternativa para a produção de linalol a partir de uma fonte natural é o óleo essencial obtido do Ho-Sho (*Cinnamomum camphora* Nees & Eberm). O principal componente do óleo essencial de Ho-Sho, obtido a partir de folhas da planta submetidas ao processo de extração com arraste a vapor, foi o linalol (80-90% m/m) (Yoshida et al. 1969).

Este trabalho teve como objetivo determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do Linalol sobre bactérias sensíveis e a atividade antioxidante pelo teste de DPPH.

## MATERIAL E MÉTODOS

Dentre os microrganismos, foram selecionados 6 bactérias Gram-positivas e 13 Gram-negativas. Para determinar a CIM foi utilizado o método indireto de crescimento bacteriano através da densidade óptica em meio de cultura Lúria Bentani (Tripton 10g/L, Cloreto de Sódio 5g/L e Extrato de Levedura 5g/L). Após o crescimento prévio das culturas, foram inoculados em microtubos 10 µL de pré-inóculo ( $10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>) com 1 mL de caldo LB contendo diferentes concentrações do óleo

essencial, utilizando juntamente com o meio de cultivo o volume correspondente a 1% de Dimetilsulfóxido (DMSO) com o objetivo de facilitar a homogeneização do óleo essencial no meio líquido (Maloz, 2005). Posteriormente ao processo de inoculação os microtubos foram incubados sob agitação eletromagnética (60 Hz), por um período de 24 horas à temperatura de 37 °C. Com o objetivo de avaliar o crescimento bacteriano para determinar a CIM do óleo essencial sobre determinada bactéria, submeteu-se a três repetições de leitura através do leitor automático de microplacas, acoplado em computador com programa Kcjunior, com comprimento de onda pré-selecionado de 490 nm. As concentrações de óleo essencial testados no experimento para o óleo e os 19 microrganismos selecionados foram de: 2,0; 1,0; 0,5; 0,375; 0,25; 0,175; 0,1; 0,0875; 0,075; 0,0625; 0,05; 0,025; 0,01; 0,005; 0,002 e 0%. A inibição do crescimento foi determinada pela diferença entre as leituras realizadas em 24 horas pela leitura realizada em 0 horas. A atividade antioxidante foi analisada pela atividade de captura de radicais livres com o teste de DPPH. A metodologia está baseada na medida da extinção da absorção do radical 1,1-difenil-2-picril hidrazil (DPPH) em 517 nm (Miranda & Fraga, 2006). A técnica consistiu na incubação por 10 minutos, de 500 µL de uma solução etanólica de DPPH 0,1 mM com 500 µL de soluções contendo concentrações crescentes de óleo essencial do Ho-Sho (0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 12,5; 15,0; 20,0 e 30,0 %) em etanol. A solução “controle” consistiu de DPPH 0,1 mM em etanol e a solução “branco” de solvente etanol. A porcentagem de atividade antioxidante foi dada pela fórmula:  $AA\% = 100 - \frac{[(Abs._{amostra} - Abs._{branco}) \times 100]}{Abs._{controle}}$ . Analisaram-se as amostras em espectrofotômetro em comprimento de onda de 517 nm, com o objetivo de avaliar a absorbância das diferentes concentrações das amostras. O gráfico da % de atividade antioxidante em função da concentração do óleo essencial, forneceu a IC<sub>50</sub>, a concentração

de óleo essencial necessária para captar 50% do radical livre DPPH.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação dos resultados das CIM, observou-se que todos os microrganismos apresentaram-se susceptíveis ao óleo essencial de *Cinnamomum camphora*. A variação das Concentrações Inibitórias Mínimas das bactérias gram-positivas foi de 1,75 mg.mL<sup>-1</sup> (*Staphylococcus aureus*) a 2,50 mg.mL<sup>-1</sup> (*Staphylococcus epidermidis*). Já a variação das CIM das bactérias gram-negativas foi de 0,625 mg.mL<sup>-1</sup> (*Citrobacter freundii*) a 2,50 mg.mL<sup>-1</sup> (*Shigella flexneri*).

Os resultados demonstram que o percentual antioxidante aumenta proporcionalmente à concentração de óleo essencial adicionado, atingindo o valor máximo de 84,53% de atividade antioxidante para a concentração de 8,0 % (80.000 mg/mL). A correlação entre a atividade antioxidante (%) e a concentração de óleo utilizado ( $Y = 0,0009x + 48,956$ ) com  $R^2 = 0,911$  forneceu um IC de 1.160 mg/mL, que é a concentração de óleo essencial necessária para causar 50 % de atividade antioxidante. Esta concentração embora alta, se comparada com antioxidantes por excelência como o ácido ascórbico (IC = 2,15), mostra potencial do mesmo, para uso em cosméticos (shampoos e cremes), devido às doses de uso.

## CONCLUSÃO

As concentrações inibitórias mínimas (CIM) encontradas para o óleo essencial de *Cinnamomum camphora* mostraram ser eficazes sobre todas as bactérias estudadas e que também o óleo apresentou um ótimo resultado como agente antimicrobiano. Os resultados obtidos com o óleo testado neste trabalho pode abrir perspectivas no sentido de desenvolver um antimicrobiano eficaz, podendo ser usado no tratamento de doenças infecciosas causadas por microrganismos, principalmente *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, associados a infecções de pele.

Considerando a existência da atividade antioxidante, estudos adicionais são necessários para avaliar essa propriedade do óleo essencial como uma aplicação sustentável dos recursos do Ho-Sho nos setores farmacêuticos e cosméticos. Além disso, devem ser realizados também estudos *in vivo* que permita o entendimento do seu mecanismo de ação antioxidante.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MIRANDA, A.L. P.; FRAGA, C. A.M. 2006. Atividade Seqüestradora de Radical Livre Determinação do Potencial Antioxidante de Substâncias Bioativas in: Monge A., Ganellin, C. R. (ed.) Pratical Sudies orm Medicinal Chemistry IUPAC.
- MALOZ, M.K.P. 2005. Caracterização morfológica, avaliação agronômica, química e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de diferentes espécies exóticas de gênero Salvia. Erechim-RS. 87f. Tese de Mestrado em Biotecnologia. Instituto de Biotecnologia. Universidade de Caxias do Sul. Caxias do Sul, RS.
- YOSHIDA, T., MURAKI, S., KAWAMURA, H., KOMATSU, A. 1969. Minor Constituents of Japanese Ho-Leaf Oil. Agr. Biol. Chem., vol. 33. p. 343-352.