

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE

Syzygium aromaticum (L.) MERR. & PERRY (CRAVO- DA ÍNDIA)

NO FUNGO *Penicillium roqueforti*

Juraci Lourenço Teixeira

Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Triângulo Mineiro (IFTM)

Mariana Mara de Oliveira

Bióloga formada pelo UNIFOR-MG - e-mail: ci-ril@hotmail.com

Pascoal José Gaspar Junior

Professor do UNIFOR-MG

RESUMO

Estudos recentes de compostos naturais de plantas medicinais e condimentares relatam a sua utilização na preservação de alimentos e no controle de patógenos veiculados na alimentação humana e animal. O presente estudo teve como objetivo avaliar, *in vitro*, o efeito do óleo essencial de *Syzygium aromaticum*(L.) MERR. & PERRY (cravo-da-índia), extraído por arraste de vapor e por solventes, sobre o crescimento micelial do fungo *Penicillium roqueforti*. O óleo sofreu o processo de extração em um protótipo, obtendo-se dois tipos de óleo de uma mesma destilação, observando um mais denso e outro menos denso que a água. A extração por solventes foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Cechinel Filho e Yunes (1998). Foram testados todos os extratos nas concentrações de 1,00, 2,00, 3,00, 4,00, e 5,00 ¼g/L., usando como meio de cultura MEA (Malte Extrato de Agar). Os resultados mais efetivos sobre o crescimento micelial do fungo *Penicillium roqueforti* foram o óleo mais denso e o óleo extraído por hexano, na concentração máxima testada de 5,00 ¼g/L, ocorrendo, assim, a inibição total do crescimento micelial.

Palavras-chave: Óleo essencial. *Penicillium Roqueforti*. Extração.

STUDY OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL OF *Syzygium aromaticum* (L.)

MERR. & PERRY* IN THE FUNGUS *Penicillium roqueforti

ABSTRACT

Recent studies of natural compounds of medicinal plants and herbs have reported their use in food preservation and control of borne pathogens in food and feed. This study aimed to evaluate *in vitro* the effect of essential oil *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry, extracted for steam and solvents, on the mycelial growth of *penicillium roqueforti*. The oil extraction process has conducted in a prototype, yielding two types of oil, a single distillation, watching one another more dense and less dense than water. The solvent extraction was performed according to the methodology proposed by Cechinel Filho and Yunes (1998). All extracts were tested at concentrations of 1.00, 2.00, 3.00, 4.00, and 5.00 mg/L, using as culture medium MEA (Malt Extract Agar). The more effective results on the mycelial growth of *Penicillium roqueforti* was the most dense oil and oil extracted by hexane, the upper concentration of 5.00 mg/L occurring as total inhibition of mycelial growth.

Keywords: Essential oil. *Penicillium roqueforti*. Extraction.

1 INTRODUÇÃO

Os fungos são encontrados no solo, na água, nos vegetais, no ar e em detritos orgânicos. Podem se apresentar como leveduras ou fungos filamentosos e, dependendo do meio em que estão inseridos e de suas condições nutricionais, apresentam morfologia diferente (BERGOLD; GEORGIADIS, 2004, p. 159).

Algumas formas desses fungos estão associadas a benefícios, porém, outras espécies estão ligadas a malefícios, entre eles, as doenças. Por exemplo, as onicomicoses, infecções fúngicas ungueal (SOUZA *et al*, 2004, p. 152), não somente nas unhas, também aparecem no cabelo e pele (LIMA *et al*, 2006, p. 185). Ou também como contaminantes de alimentos, grãos e rações (ARAÚJO, 2005; ROSS, 1998; SOUZA *et al*, 2004; VIEIRA, 1999) que, por apresentarem nutrientes, como carboidratos, proteínas e lipídeos, reúnem substratos adequados para o desenvolvimento de microorganismos (MEIRELLES, 2006, p. 614).

Devido a esses problemas, surgiu a necessidade da procura de novos agentes antimicrobianos, inclusive ligados a plantas medicinais, pois a resistência desses microorganismos patogênicos, frente aos produtos sintéticos, é muito grande e as plantas e seus extratos naturais podem se tornar uma alternativa eficiente. Além disso, os usos de antifúngicos a longo prazo podem acarretar resistência.

Diversos trabalhos têm demonstrado a eficácia de extratos brutos ou óleos essenciais obtidos a partir de plantas medicinais e condimentos no controle de microorganismos patogênicos (ENANDES; GARCIA CRUZ, 2007; LIMA *et al*, 2006; MAZZAFERA, 2003; PERREIRA *et al*, 2006a; PERREIRA *et al*, 2006b; ROZWALKA, 2008; SOUZA *et al*, 2004).

Dentre as espécies vegetais cujos óleos essenciais possuem atividade antifúngica e bacteriana destaca-se a *Syzygium aromaticum* (L) Merr. & Perry, chamada popularmente, de cravo-da-índia (AMARAL *et al*, 2005; ERNANDES; GARCIA-CRUZ, 2007; MAZZAFERA, 2003; PERREIRA *et al*, 2006 a, ROZWALKA, 2008; VENTURIM, 2007).

Sendo assim, este trabalho visa avaliar a atividade antifúngica do óleo de *Syzygium aromaticum* (L) Merr. & Perry, extraído com diversos solventes. Também foi utilizada a extração por arraste de vapor. Esta técnica consiste em passar vapor de água por meio de mistura que contenha componente imiscível com água, porém, razoavelmente volátil, condensando-se, depois, os vapores resultantes. (FERREIRA, 2004).

2 METODOLOGIA

A avaliação da atividade antifúngica do óleo de cravo-da-índia no *Penicillium roqueforti* baseou-se no método bionalítico *in vitro*, por meio do qual se avaliaram os efeitos do óleo essencial em diferentes concentrações (1,00, 2,00, 3,00, 4,00, 5,00 $\frac{1}{4}$ g/L), sobre o crescimento micelial da cultura fúngica, por meio de comparação com a testemunha, que continha 30% de álcool etílico.

As avaliações foram feitas após sete dias da montagem do experimento, por meio de médias das medidas dos diâmetros opostos do crescimento micelial.

A porcentagem de inibição do crescimento micelial foi calculada usando a seguinte fórmula (LINDSEY; STANDEN, 2004):

$$\% \text{ inibição} = 100 - (E/C \times 100)$$

Onde:

E = média do crescimento micelial de cada tratamento

C = média do crescimento micelial da testemunha (controle)

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

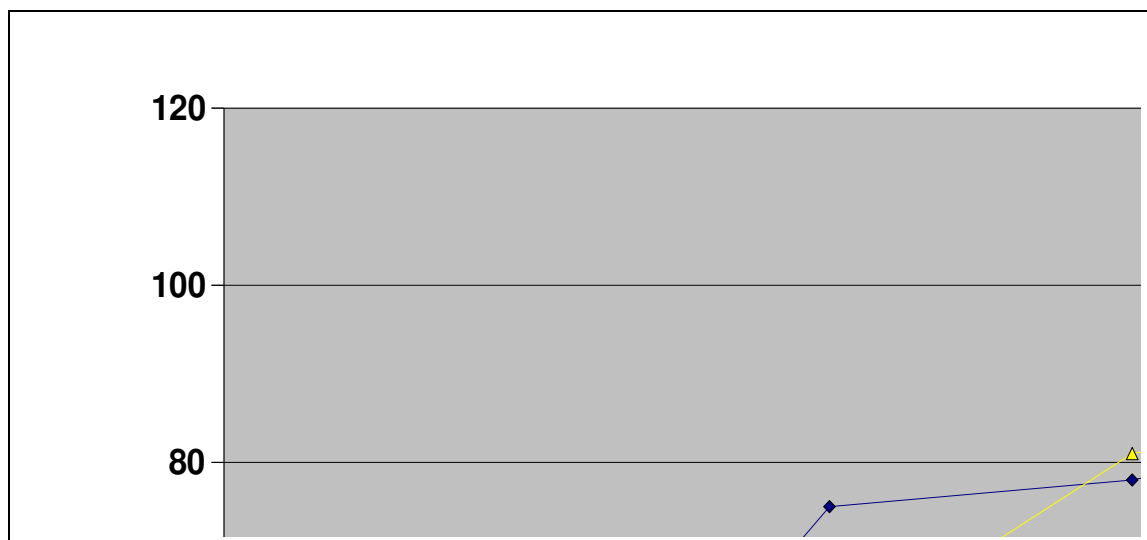
Observando os óleos extraídos por extração por solventes, os melhores resultados foram obtidos com os solventes hexano e diclorometano. O extrato por hexano foi o mais efetivo, mostrando uma linearidade dos resultados desde a concentração mínima de 1,0 $\frac{1}{4}$ g/L.

No diclorometano, pode-se observar que houve uma linearidade nos resultados também, pois, na medida em que se aumenta a concentração, o crescimento micelial foi afetado. Isso ocorreu desde a concentração mínima de 1,0 $\frac{1}{4}$ g/L, contudo, na concentração máxima, não houve inibição total.

Os dois solventes que apresentaram inibição micelial no fungo *P. roqueforti* são compostos apolares e de acordo com Simões e Spitzer (2007), os solventes apolares extraem melhor os óleos essenciais, pois estes são constituídos, basicamente, por solventes apolares, ocasionando uma maior extração do composto bioativo, eugenol, o responsável pelo efeito antimicrobiano.

Os resultados referentes ao acetato de etila e butanol não foram apreciáveis, já que os óleos extraídos nesses solventes não obtiveram resultados satisfatórios. Na concentração 3,0 $\frac{1}{4}$ g/L na extração por acetato de etila, o crescimento micelial foi aumentado, não gradativamente. Quando se chegou à concentração de 5,0 $\frac{1}{4}$ g/L, observou-se que o fungo obteve certa inibição, porém, nada significativo em relação aos resultados obtidos para as mesmas concentrações, com os outros solventes.

Gráfico 1- Porcentagem de inibição do crescimento micelial com óleos extraídos por arraste de vapor e por extração por solventes



Fonte: Dados da pesquisa, 2009.

No butanol, na concentração de 3,0 $\mu\text{g/L}$, ocorreu uma mínima inibição. Porém, à medida que foi aumentando a concentração, não houve resultados satisfatórios demonstrando até que a fração testada servia como nutriente para o crescimento micelial.

Perreira *et al* (2006 a), testando o óleo essencial de manjerição, observou que a redução do desenvolvimento micelial dos fungos *Aspergillus niger* e *Aspergillus flavus* foi obtida apenas na concentração de 1,00 $\frac{1}{4}\text{g/L}$ e a partir do aumento da concentração, o desenvolvimento do fungo foi estimulado. Esse tipo de comportamento requer um estudo específico, por se tratar de vários fatores, tais como: tipo de substrato, reação do fungo ao substrato e diferentes tipos de compostos que podem interferir sobre o comportamento do fungo.

Observando os óleos essenciais extraídos por arraste de vapor, o óleo essencial mais denso foi o mais efetivo. Na concentração de 5,0 $\frac{1}{4}\text{g/L}$, apresentou inibição total. Perreira *et al* (2006 b) avaliaram o efeito de inibição micelial do óleo essencial de cravo-da-índia no *P. roqueforti*, nas concentrações de 1, 2, 3 e 4%, apresentando efetividade e inibição total em todas. Contudo, a extração realizada por esse trabalho aconteceu num aparelho de clewenger modificado, onde houve o surgimento de duas fases oléicas, ambas demonstrando uma eficiência muito superior aos trabalhos de Perreira *et al* (2006 b).

De acordo com os resultados apresentados e no GRAF. 1, os solventes apolares podem ter extraído o princípio ativo do condimento, composto que o torna antimicrobiano, pois os resultados,

principalmente do óleo 1 (mais denso) e do hexano, estão bem próximos, no sentido de inibir o crescimento micelial.

4 CONCLUSÃO

Os óleos extraídos do cravo apresentaram atividade antifúngica, tanto para os óleos essenciais extraídos por arraste de vapor quanto para os extratos hexânicos.

REFERÊNCIAS

AMARAL, M. F. Z. J.; BARRA, M. T. F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista eletrônica de farmácia**, Goiania, v. 2, n. 2, p. 5-8, 2005.

ARAÚJO, R. C. Z. **Embalagens ativas com ervas aromáticas e condimentares na conservação de pães artesanais**. 2005. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2005.

BERGOLD, A. M.; GEORGIADIS, S. Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão. **Visão acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 2, p.159-172, jul./dez. 2004.

ERNANDES, F. M. P. G.; GARCIA-CRUZ, C. H. Atividade antimicrobiana de diversos óleos essenciais em microorganismos isolados do ambiente. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 5, n. 2, p. 193-206. jul./dez. 2007.

FERREIRA, A. B. de H. **Novo dicionário Aurélio da língua portuguesa**. 3. ed. São Paulo: Positivo, 2004.

LIMA, I. O. *et al.* Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Cândida*. **Revista brasileira de farmacognosia**, João Pessoa, v.16, n. 2, p. 197-201, abr./jun. 2006.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da índia e eugenol. **Revista brasileira de botânica**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 231-238, jun. 2003.

PERREIRA, M. C. Inibição do desenvolvimento antifúngico através da utilização de óleos essenciais de condimentos. **Revista ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 4, p. 731-738, jul./ago. 2006a.

PERREIRA, M. C. *et al.* Spices, fungi mycelial development and ochratoxin A production. **Scientific research and essay**, Nairobi, v.1, n.2, p. 38-42, nov. 2006b.

OLIVEIRA, M. M. *et al.* Extração de óleos essenciais pelo sistema de arraste de vapor: comparação da eficiência de extração em um protótipo e em um aparelho de cleverger. In: Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 23., 2008, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: SBQ, 2008.

- ROZWALKA, L. C. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Coltotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência rural**, Santa Maria, v. 58, n. 2, p. 301-307, mar./abr. 2008.
- ROSS, G. U. Produção de Paulina em maçã (*Malus domestica* Borkhausen) cultivares gala e fuji inoculadas com *Penicillium spp.* **Revista ciência e tecnologia de alimentos**, Campinas, v. 8, n. 1, jan./abr. 1998.
- SIMÕES, C. M.; SPITZER, V. Óleos essenciais. In: SIMÕES, C. M. O. (Coord.) *et al.* **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Editora UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007, p. 466-493.
- SOUZA, E. A. F. *et al.* Frequência de onicomicose por leveduras em Mariguá Paraná, Brasil. **Revista brasileira de dermatologia**, Maringá, v. 28, n. 2, p. 151-156, fev. 2007.
- SOUZA, S. M. C. *et al.* Avaliação de óleos essenciais de condimentos sobre o desenvolvimento micelial de fungos associados a produtos de panificação. **Revista ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 3, p. 685-690, maio/jun.2004.
- VENTURIM, B. B. Composição química e atividade antifúngica do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) na onicomicose. **Revista científica da Universidade de Vila Velha**, Vila Velha, v. 7, n. 1, p. 143-156, jan./ jun. 2007.
- VIEIRA, A. P. Ocorrência de micotoxinas e características físico-químicas em farinhas comerciais. **Revista ciência e tecnologia de alimentos**, Campinas, v. 19, n. 2, maio/ ago. 1999.