

Estudo dos compostos voláteis e atividade antimicrobiana da *Myrciaria tenella* (cambuí)

Volatile oil composition and antimicrobial activity from *Myrciaria tenella*

Naira F. Z. Schneider¹, Neusa F. Moura², Tiara Colpo³, Kátiuska Marins⁴, Cristiane Marangoni⁵ & Adriana Flach⁶

RESUMO – A composição química do óleo volátil das folhas de *Myrciaria tenella* foi determinada através de análise em Cromatografia Gasosa (CG) e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrofotometria de Massa (CG/EM). Foi possível identificar 50 compostos. Os principais constituintes encontrados no óleo foram α -pineno (31,5%) e β -pineno (19,5%). Oito linhagens de bactérias foram usadas para a realização da atividade antimicrobiana, sendo que o óleo volátil da *M. tenella* apresentou maior efeito frente à *Enterobacter* sp. e *Shigella flexnerii*.

PALAVRAS-CHAVE – *Myrciaria tenella*, óleo volátil e atividade antimicrobiana.

SUMMARY – The volatile oil composition from *Myrciaria tenella* leaves has been investigated by GC e GC/MS. Fifty compounds were identified. The major volatile oil constituents from the leaves were α -pinene (31.5%) and β -pinene (19.5%). The volatile oil showed larger antimicrobial activity against *Enterobacter* sp. and *Shigella flexnerii*.

KEYWORDS – *Myrciaria tenella*, volatile oil and antimicrobial activity.

INTRODUÇÃO

A *Myrciaria tenella*, vulgarmente conhecida por cambuí, cambuim e cambuinzinho, é uma pequena árvore de até 6m de altura (Backes; Irgang, 2002), pertencente à família das Myrtaceae. A família das Myrtaceae apresenta cerca de 300 gêneros e 3.500 espécies, geralmente encontradas nas regiões tropicais e subtropicais das Américas e da Austrália; na flora brasileira são comumente encontradas, com destaque para a floresta da Restinga. (Joly, 2002 & Souza & Lorenzi, 2005).

O perfil químico da família caracteriza-se, basicamente, pela presença de taninos, flavonóides, monoterpênicos, sesquiterpênicos, triterpenóides e outros. (Cruz & Kaplan, 2004). Essa família está dividida em duas subfamílias: Myrtoideae e Leptospermoideae (Limberger *et al.*, 2004). A subfamília Myrtoideae, inclui o gênero *Eugenia* que apresenta, como característica básica, a presença de flavonóides e óleos voláteis (Costa *et al.*, 2000) e seus extratos são usados na medicina popular como antimicrobianos, anti-inflamatórios e antidiabéticos (Oliveira *et al.*, 2006).

A *M. tenella*, uma das plantas representantes do gênero *Eugenia*, representa um recurso medicinal importante, sendo utilizada no tratamento de: herpes, brotoejas, cólicas, diarreias, entre outras. (Backes & Irgang, 2002). O presente trabalho tem, como objetivo principal, avaliar a composição química e atividade antimicrobiana do óleo volátil de *M. tenella*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e extração

As folhas da espécie *M. tenella* foram coletadas no município de Rodeio Bonito, RS, no mês de maio de 2004. As folhas da espécie sofreram extração por arraste de vapor d'água (Clevenger modificado), obtendo-se assim o óleo volátil da espécie, que posteriormente foi armazenado em frasco âmbar e submetido à refrigeração.

Análise cromatográfica

O óleo obtido foi submetido à análise em cromatografia gasosa equipado com coluna capilar do tipo SE – 54 (25 x 0,25mm). As condições de análises utilizadas foram: gás de arraste He (1mL/min); temperatura de injeção da coluna 200°C; temperatura FID 280°C; temperatura da coluna 50-250°C a 4°C/min. A análise de CG/EM foi realizada em aparelho HP modelo 6890, operando em E.I a 70 eV, equipado com coluna capilar HP-5 (30 x 0,25mm). As condições de análise foram as mesmas utilizadas para a cromatografia gasosa. As identificações dos compostos foram baseadas no cálculo do índice de Kovat's e na comparação com espectros de massa da NBS (Massada, 1995; Adams, 1995).

Atividade antimicrobiana

“Um total de 8 linhagens de bactérias foram utilizadas para a realização dos testes microbiológicos, sendo Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228),

Aprovado em 06/11/2007

¹ Acadêmica do curso de Farmácia, Unochapecó; ² Prof. Dr. em Quím. Orgânica, Centro de Ciências Agro Ambientais e de Alimentos, Unochapecó;

³ Farmacêutica; ⁴ Acadêmica do Curso de Farmácia, Unochapecó; ⁵ Mestre em Ciências Ambientais;

⁶ Professora Dra. em Química Orgânica, Centro de Ciências e Tecnologia, UFR.

TABELA I
Composição química do óleo volátil da *Myrciaria tenella*

Nº do pico	Componente	% no óleo	Índice de Kovats	Método de identificação
1	α -tujeno	0,3	925	CG – MS
2	α -pineno	31,5	935	CG – MS
3	Canfeno	0,5	949	CG – MS
4	β -pineno	19,2	979	CG – MS
5	Mirceno	0,2	988	CG – MS
6	α -terpineno	0,1	1017	CG – MS
7	Cineno	0,3	1024	CG – MS
8	Limoneno	2,8	1029	CG – MS
9	1,8-cineol	6,6	1032	CG – MS
10	Terpinoleno	0,3	1085	CG – MS
11	Linalol	0,7	1099	CG – MS
12	Fenchol	0,5	1119	CG – MS
13	Canfotenal	0,13	1126	CG – MS
14	Terpinen-1-ol	0,05	1130	CG – MS
15	Nopinona	0,05	1138	CG – MS
16	Pinocarcol	0,3	1141	CG – MS
17	Camfor	3,8	1148	CG – MS
18	3-metil-canfenilol	0,3	1155	CG – MS
19	Borneol	1,3	1172	CG – MS
20	Terpinen-4-ol	0,8	1180	CG – MS
21	α -terpinol	5,4	1196	CG – MS
22	Verbenona	2,7	1207	CG – MS
23	Carveol	0,13	1218	CG – MS
24	Pulegona	0,07	1238	CG – MS
25	Acetato de bornil	0,9	1283	CG – MS

Nº do pico	Componente	% no óleo	Índice de Kovats	Método de identificação
26	Δ -elemeno	0,08	1331	CG – MS
27	Neril-acetato	0,07	1356	CG – MS
28	Isoledene	0,07	1369	CG – MS
29	α -copaeno	0,07	1374	CG – MS
30	β -elemeno	0,2	1388	CG – MS
31	Jasmone	0,14	1390	CG – MS
32	Metil-eugenol	0,08	1397	CG – MS
33	α -gurgujeno	0,14	1405	CG – MS
34	β -cariofileno	3,1	1419	CG – MS
35	γ -elemene	0,3	1428	CG – MS
36	Aromandreno	1,4	1437	CG – MS
37	α -humuleno	0,4	1454	CG – MS
38	Hidro-Aromandreno	0,3	1459	CG – MS
39	γ -muuroleno	0,2	1480	CG – MS
40	β -selineno	3,1	1488	CG – MS
41	α -selineno	3,2	1495	CG – MS
42	2,6-ditercbutil-p-cresol	0,5	1500	CG – MS
43	Bisaboleno	0,07	1506	CG – MS
44	Δ -cadineno	0,5	1516	CG – MS
45	Cadino-1,4-dieno	0,6	1531	CG – MS
46	Seline-3,7(11)-dieno	0,4	1536	CG – MS
47	α -calacorena	0,3	1540	CG – MS
48	Germacreno B	0,6	1557	CG – MS
49	Espatuleno	1,1	1576	CG – MS
50	Ó. Cariofileno	3,8	1581	CG – MS

TABELA II
Atividade antimicrobiana do óleo volátil da *Myrciaria tenella*

GRAM - POSITIVA				
Espécie	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Micrococcus sp.</i>
Óleo de <i>M. tenella</i>	64 μ g	-	3,2 μ g	-
GRAM - NEGATIVA				
Espécie	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Shigella flexnerii</i>
Óleo de <i>M. tenella</i>	32 μ g	12,8 μ g	6,4 μ g	6,4 μ g

Enterococcus faecalis (isolado), *Micrococcus sp.* (isolado) e Gram-negativas *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Proteus mirabilis* (ATCC 29245), *Enterobacter sp.* (isolado) e *Shigella flexnerii* (isolado)."

Todos os procedimentos de isolamento, coleta e identificação por metodologia padrão foram realizados no laboratório de Microbiologia da UnoChapécó. O método bioautografia direta foi à técnica utilizada para o *screening* da atividade antimicrobiana da espécie *M. tenella*, sendo o inóculo padronizado com o auxílio da escala de MacFarland.

A amostra do óleo foi solubilizada em clorofórmio e aplicada em placas cromatográficas, sendo então transferidas para as placas de Petry onde foram inoculados os microorganismos em solução salina juntamente com o meio de cultura (Agar Müller-Hinton). As placas foram transferidas para a estufa, onde ficaram incubadas durante 48h a 37°C. Trans-

corridas as primeiras 24h foi utilizada a solução reveladora TTC (Cloreto de Trifenil Tetrazólico) e 24h após da aplicação do revelador, as leituras foram realizadas. Para controle positivo foi usado o antibiótico cloranfenicol.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através do óleo volátil extraído das folhas da espécie foi possível identificar 50 compostos presentes na *M. tenella* descritos na Tabela I, os quais representam 99,65% da composição química do óleo.

Dentre os terpenos identificados no óleo volátil da espécie, a maioria é composta por monoterpenos, 78,93%, seguido dos compostos sesquiterpênicos encontrados em menor percentual, 20,72%.

O composto majoritário presente no óleo volátil da espécie *M. tenella* é o α -pineno com concentração de 31,5%, seguido do β -pineno com 19,2% e o 1,8-cineol, com 6,6%. O gênero Eugênia, que compreende a espécie *M. tenella*, em alguns estudos tem demonstrado na sua composição grande concentração de α - e β -pineno. Entre essas espécies, a *Eugenia brasiliensis* Lam. (Moreno, et al., 2007); *Myrciaria dubia* (Franco; Shibamoto, 2000); *Eugenia multcostata*, *E. sulcata* e *E. xiriricana* (Apel, et al., 2004) foram as que apresentaram os pinenos com compostos majoritários.

Na Tabela II, observam-se a atividade do óleo volátil frente às bactérias Gram-positivas e Gram-negativas,

destacando maior efeito as Gram-negativas. O óleo volátil da *M. tenella* apresentou amplo efeito (6,4µg) frente a dois microorganismos patogênicos, *Enterobacter* sp. e *Shigella flexnerii*. A primeira bactéria é responsável por infecções nasocorinais e urinárias (Mims, et al., 1999). Já a *Shigella flexnerii* é responsável pela shigelose, que causa diarreia hemorrágica, infecção e ulcerações gastrintestinais (Trabulsi, et al., 2005). Ambas as bactérias podem ser evitadas pela prevenção higiênica; neste caso, o óleo volátil da espécie pode ser utilizado como anti-séptico.

Apesar de o óleo volátil apresentar maior efetividade contra bactérias Gram-negativas, a sua maior ação foi frente à bactéria Gram-positiva, *Enterococcus faecalis* (3,2µg), considerada um dos agentes mais comuns de infecção hospitalar e que nos últimos anos vem desenvolvendo cepas resistentes a antimicrobianos, tornando-se imperiosa para a saúde humana, estratégias de controle para a redução da disseminação desse patógeno. (Trabulsi, et al., 2005).

Em estudo realizado por Leite, et al (2007), os compostos α -pineno e β -pineno, mostraram-se efetivos ao inibir as cepas bacterianas testadas: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pneumoniae* e *Streptococcus pyogenes* e por Burt (2004), que encontraram atividade antimicrobiana dos pinenos frente às bactérias *S. aureus* e *Escherichia coli*.

Outros compostos como 1,8 cineol, linalol e eucaliptol presentes na *M. tenella*, embora em menor concentração, em alguns estudos também apresentam alto potencial antimicrobiano (Somboli, et al, 2006), podendo então ocorrer um sinergismo entre todos os compostos encontrados.

Devido às propriedades antimicrobianas encontradas neste trabalho é possível aliar o uso da espécie *M. tenella* na terapia antimicrobiana, visando à importância da procura e descoberta de compostos terapêuticos alternativos.

CONCLUSÃO

Através deste estudo pode-se concluir que a pesquisa sobre as plantas utilizadas na medicina popular com finalidade anti-séptica frente à bactérias Gram-positivas e Gram-negativas tornou-se fundamental, visto que o óleo volátil da cambuí apresentou atividade antimicrobiana frente à maioria das bactérias testadas.

A análise por CG e CG/EM permitiu identificar 50 compostos presentes no óleo, cerca de 99,65% dos constituintes totais. Sendo que na composição predominam os monoterpenos (78,93%) sendo seu maior constituinte α -pineno (31,5%). O óleo volátil da espécie *M. tenella* apresentou bom potencial antimicrobiano, principalmente, frente à *Enterobacter* sp., *Shigella flexnerii* e *Enterococcus faecalis*.

A análise do óleo volátil da espécie coletada na região oeste de Santa Catarina foi determinada pela primeira vez na literatura. Não foi possível realizar uma

análise comparativa dos compostos determinados nessa espécie, pois não foram encontrados dados na literatura de análise dos constituintes voláteis.

REFERÊNCIAS

1. Adams, R. Identification of Essential Oil Components by Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured Publishing, Carol Stream, IL. 1985.
2. Apel, Miriam A. Essential Oils from Eugenia Species - Part VII: Sections Phyllocalyx and Stenocalyx. Journal of Essential Oil Research: JEOR. Mar/Apr 2004. FindArticles.com. Disponível em http://findarticles.com/p/articles/mi_qa4091/is_200403/ai_n936859 Acesso em: 30 set. 2007. Backes, P.; Irgang, B. Árvores do sul. São Paulo: Clube da Árvore, 2002.
3. Costa, T.R. et al. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. Journal of Ethnopharmacology, São Paulo, v. 72, n. 1-2, p. 111-117, mar 2000.
4. Cruz; A.V. de M.; Kaplan, M.A.C. Estudo comparativo do perfil químico e o uso popular de espécies das famílias myrtaceae e melastomataceae. Rio de Janeiro: UFRJ/Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2004.
5. Franco M.R.; Shibamoto, T. Volatile composition of some Brazilian fruits: umbu-caja (*Spondias citherea*), camu-camu (*Myrciaria dubia*), Araça-boi (*Eugenia stipitata*) and Cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*). J Agric Food Chem; 48(4):1263-5, Abril, 2000.
6. Disponível em: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IscScript=iah/iah.xis&base=MEDLINE&lang=p&nextAction=lnk&isisFrom=1&count=10&exprSearch=pinene%20and%20eugenia>. Acesso em: 30 set. 2007.
7. Joly, A.B. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. 13ª. ed. São Paulo: Nacional, 2002.
8. Leite, A.M.; et al. Inhibitory effect of beta-pinene, alpha-pinene and eugenol on the growth of potential infectious endocarditis causing Gram-positive bacteria. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas; 43(1), 121-126, jan.-mar. 2007.
9. Limberger, R.P., Sobral, M., et al. Óleos voláteis de espécies de *Myrcianativas* do Rio Grande do Sul. Química Nova 27: 916-919, 2004.
10. Massada, Y. Analysis of Essential Oil by Gas Chromatography and Spectrometry. J. Wiley & Sons, NY. 1995.
11. Oliveira, A.M., et al. Estudo fitoquímico e avaliação das atividades moluscicida e larvicida dos extratos da casca do caule e folha de *Eugenia malaccensis* L. (Myrtaceae). Revista Brasileira de Farmacognosia, 16(Supl.): 618-624, Dez. 2006.
12. Mims, C.A. et al. Microbiologia Médica. 2ª ed. São Paulo: Manole, 1999.
13. Moreno, Paulo Roberto H. et al. Composição dos óleos essenciais de variedades de coloração de frutos de *Eugenia brasiliensis* Lam. Sci. agric. (Piracicaba, Braz.), Piracicaba, v. 64, n. 4, 2007.
14. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010390162007000400014&lng=pt&nrm=iso>.
15. Acesso em: 02 Out. 2007.
16. Ruppert, B.M., Pereira, E.F., Gonçalves, L.C., Pereira, N.A., Pharmacological screening of plants recommended by folk medicine as anti-snake venom - I. Analgesic and anti-inflammatory activities. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1991. 87(2), 203-205.
17. Somboli, A.; Babakhani, B.; Mehrabian, A. Antimicrobial activity of six constituents of essential oil from *Salvia*. Department of Biology, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Evin, Tehran, Iran. Março, 2006
18. Souza, V.C.; Lorenzi, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para a identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2005.

Endereço para correspondência

Naira Fernanda Zanchett Schneider

E-mail: naira@unochapeco.edu.br

Centro de Ciências Agro Ambientais e de Alimentos -

UNOCHAPECÓ

Rua Dionizio Cerqueira, 50e - 89801-140 - Chapecó/SC