

## Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess): avaliação das atividades microbiana e antioxidante

A. C. Stieven<sup>1\*</sup>, J. J. S. Moreira<sup>2</sup>, C. F. Silva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química - Faculdade Assis Gurgacz - FAG - CEP 85806-095 - Cascavel - PR - Brasil

<sup>2</sup>Universidade Federal do Sergipe - UFS - CEP 49095-790 - Aracaju - SE - Brasil

\*anastieven@yahoo.com.br

**Resumo:** A geração de radicais livres, resultado dos processos metabólicos necessários para a produção de energia, causam um grande número de doenças, o que aumenta o interesse pelos compostos antioxidantes presentes em frutos e vegetais e que são responsáveis pela captura destes radicais. Além disso, a aplicação de óleos e extratos de frutos no controle microbiológico justifica o crescimento dos estudos científicos dessas matérias-primas. Nesse contexto o presente trabalho analisou o óleo essencial de diferentes partes do fruto de uvaia (*Eugenia pyriformis*) em relação à atividade microbiológica, fenóis totais e antioxidantes. O óleo essencial apresentou rendimento maior na casca (1,23 %), seguido pela fração casca com polpa, a fração com menor rendimento foi à semente, sendo quantificados a partir do fruto refrigerado. Os resultados obtidos na microbiologia frente as cepas de *Scherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosas* ATCC 27 853 e *Enterococcus faecalis* ATCC99212 foram de ação bacteriostática em todas as cepas testadas, exceto a bactéria *P. aeruginosas*. Intervalo de inibição superior a 24 h foi observado para o óleo essencial da casca frente a bactéria *P. aeruginosas*. A quantificação de fenóis totais não foi possível pois os valores médios encontrados foram inferiores ao LQ (5 µg/mL), por espectrofotometria a 760 nm e as atividade antioxidante mostraram-se não significativas nas concentrações analisadas, em todas as frações.

**Palavras-chave:** microrganismos, óleo essencial, DPPH, uvaia.

### 1 Introdução

Evidências recentes têm demonstrado que dietas com elevado conteúdo de vegetais, frutas e grãos podem reduzir o risco de inúmeras doenças. Vários autores têm associado os efeitos benéficos desses alimentos à presença de substâncias antioxidantes cujo estudo está também relacionado à freqüente associação entre danos teciduais e liberação de radicais livres [1].

A oxidação é um processo metabólico que leva à produção de energia necessária para as atividades essenciais das células. Entretanto, o me-

tabolismo do oxigênio nas células vivas também leva à produção de radicais [2]. Antioxidantes que possam seqüestrar esses radicais livres tanto previnem como apresentam alto potencial terapêutico em doenças associadas [3].

Antioxidantes são substâncias capazes de prevenir os efeitos deletérios da oxidação, inibindo o início da lipoperoxidação, seqüestrando radicais livres e/ou quelando íons metálicos. Os compostos fenólicos de plantas enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavanóides, estilbenos, taninos con-

densados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas [4, 5, 6].

A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química que desempenham um papel importante na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo [6, 7]. O intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias [6].

Compostos que apresentam ampla atividade antioxidante podem ser obtidos a partir da extração do óleo essencial de flores, folhas, frutos, sementes, gramas, raízes, rizomas e caules das plantas. Óleos essenciais são constituintes voláteis orgânicos responsáveis pela fragrância de muitas plantas [8]; sendo que a atividade antioxidante dos óleos voláteis tem despertado o interesse de muitos pesquisadores [9].

Os óleos essenciais de plantas, também apresentam atividade antimicrobiana contra um grande número de bactérias incluindo espécies resistentes a antibióticos e antifúngicos [10]. Eles podem apresentar ação tanto contra bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas e ainda leveduras e fungos filamentosos. Isso é de grande relevância uma vez que as indústrias farmacêuticas vêm produzindo inúmeros novos antibióticos, o que tem aumentado a resistência de microrganismos à essas drogas [11].

Dentre as famílias botânicas que apresentam maior quantidade de elementos voláteis, destaca-se a família Myrtaceae, que contém centenas de gêneros e cerca de 3.500 espécies distribuídas por todo o mundo, preferencialmente nas zonas tropicais e subtropicais da América e Austrália. Além de largamente espalhadas nas florestas brasileiras, muitas de suas espécies são cultivadas nas áreas urbanas [12].

A família Myrtaceae possui várias espécies que produzem frutos comestíveis de sabor agradável, como a uvaia, pitanga, goiaba, jabuticaba, araçá, guabiroba, cagaita e cambuci, além de terem características adequadas ao uso na arborização urbana [13, 14].

Algumas espécies desta família, são utilizadas como plantas medicinais no Paraguai e Argentina, formando um complexo conhecido popularmente como Ñangapary. Dentre elas, as cerca de 400 exemplares do gênero *Eugenia* assumem destaque especial. Um exemplo disto é a cagaita (*Eugenia dysenterica*), que apresenta efeito purgativo nos frutos e é também empregada para combater problemas cardíacos [2]. A decocção de folhas de pitanga (*Eugenia uniflora*) em água pode servir para controle da hipertensão, diminuição do colesterol e ácido úrico, emagrecimento e, também, como adstringente e digestivo [15].

Os óleos essenciais de espécies de Myrtaceae caracterizam-se pela presença de compostos terpênicos com comprovada atividade microbiológica. A espécie *Eugenia puniceifolia* é rica em 1,8 cineol, alfa-terpineol e terpinen-4-ol compostos encontrados também em *Eucalyptus cinera* F. Mull, para os quais foi comprovada a atividade biológica. Ainda em *E. cinera* foi observada a atividade do composto Ocimeno [16, 17, 18].

Estudo recente realizado sobre a composição química do óleo essencial das flores e frutos de *Eugenia pyriformis* detectou a presença constante dos monoterpenos terpinen-4-ol e alfa-terpineol embora em pequenas quantidades (1,3 e 5,4 %, respectivamente) no óleo essencial da fruta. Outros dois componentes importantes para o referido óleo foram limoneno (12,4 %) e óxido de cariofileno (16,2 %) por não serem comumente encontrados em espécies de Myrtaceae [19]. O óxido de cariofileno (sesquiterpeno) e limoneno (monoterpeno) foram encontrados como constituintes traços no óleo essencial das frutas de *Eugenia uniflora*. Já em *Eugenia involucrata* não foram detectados monoterpenos no óleo essencial dos frutos. *E. pyriformis* apresentou a fração sesquiterpeno majoritária com 51,3 % contra 29,0 % da fração monoterpênica.

Embalagens produzidas a partir de biopolímeros naturais, como polissacarídeos, proteínas e lipídios, vêm sendo desenvolvidas visando sua aplicação em alimentos, como uma alternativa aos filmes poliméricos não biodegradáveis. Esses filmes podem conter agentes ativos e pela liberação controlada dos mesmos até a superfície do alimento, ampliar sua função protetora. Pesquisa recente com filmes compostos de alginato e quitosana

contendo natamicina confirmou a eficiente atividade antimicrobiana dos mesmos [20]. O uso de óleos essenciais comestíveis como agentes ativos, junto ao biopolímero, pode representar a ampliação do espectro de uso desses biopolímeros na área de alimentos, devido a comprovada eficiência antimicrobiana dos óleos essenciais principalmente aqueles contendo 1,8 cineol, alfa-terpineol e terpinen-4-ol que atuam sobre microorganismos patogênicos comumente encontrados em alimentos [16, 18].

A partir dessas considerações foi desenvolvido um trabalho que teve como objetivos determinar a atividade microbiana, quantificar os compostos fenólicos totais e avaliar a atividade antioxidante, de 03 frações (cascas com polpa, cascas e sementes) do fruto de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess, família Myrtaceae).

## 2 Material e Métodos

Todos os reagentes e solventes usados na execução dos procedimentos experimentais foram de grau analítico, adquiridos da VETEC, Rio de Janeiro, RJ. Os meios de cultura utilizados na microbiologia foram adquiridos da MERCK S.A.

### 2.1 Coleta e preparo das amostras

Os frutos de uvaia foram obtidos de árvores provenientes do fragmento florestal localizado no campus da Faculdade Assis Gurgacz, Cascavel - Pr. A coleta foi realizada entre os meses de Novembro a Janeiro de 2007/2008, sendo que os frutos eram selecionados visualmente, tendo como base de maturação a coloração amarela. Após a coleta os frutos foram armazenados sob refrigeração entre 0 e 6 °C.

Para o preparo das amostras, foi utilizado o fruto ligeiramente refrigerado, do qual foram separadas, com auxílio de material cortante, as três frações – casca com polpa (CP), Casca (C) e Semente (S), partes essas que foram utilizadas para a obtenção dos extratos e do óleo essencial.

### 2.2 Obtenção dos extratos etanólico e aquoso

Foram preparados extratos etanólicos em duas metodologias diferentes. O primeiro extrato utilizou 2 g da amostra (casca, casca com polpa e semente) triturada, imersas em 25 mL de etanol que foram mantidas em banho-maria a 70 °C por um período de 30 minutos; logo após foram filtrados em papel filtro e armazenados em material âmbar a 6 °C ±1 até sua utilização. O segundo extrato preparado foi hidroalcoólico a 80% de etanol e 5 g de amostra que foram mantidos em repouso com 50 mL da solução de etanol em água destilada, ao abrigo da luz por três dias sob refrigeração a 6 °C ±1.

A obtenção do extrato aquoso foi realizada por infusão de 2 g da amostra triturada, em água destilada a 100 °C onde foram deixados por 30 minutos; após foram filtrados e armazenados nas mesmas condições do extrato etanólico.

### 2.3 Extração do óleo essencial de uvaia

A extração do óleo essencial de uvaia foi realizada para as três frações dos frutos, em separado, utilizando o método de arraste de vapor. Aproximadamente 10 g de amostra foram misturados em 30 mL de água destilada. O tempo estabelecido para a extração foi de 6 horas.

A fração obtida no arraste de vapor foi colocada em funil de separação para efetuar-se a extração líquido-líquido com três repetições em éter etílico. Posteriormente a separação e coleta do óleo, foi adicionado agente secante NaSO<sub>4</sub> anidro, sendo então filtrado e levado ao evaporador rotativo sob vácuo.

### 2.4 Testes fitoquímicos qualitativos

A pesquisa de Compostos Fenólicos Totais – Alcalóides e Flavonóides - foi realizada a partir do extrato etanólico, aquoso e hidroalcoólico das três partes do fruto, segundo metodologia descrita na literatura [21].

## 2.5 Construção da curva de calibração do Folin Ciocalteu

A curva de calibração foi preparada a partir das medidas de absorvância da solução aquosa de ácido gálico nas concentrações 5, 10, 20, 40, e 80 µg por 0,5 mL. A este volume foram acrescentados 2,5 mL de Folin Ciocalteu 10% e 2,0 mL de solução de carbonato de sódio 7,5%, totalizando 5,0 mL correspondentes a cada ensaio. A curva de calibração foi construída a partir da leitura realizada em espectrofotômetro manual – FEMTO 700Plus, cubeta de quartzo, em absorvância de 760 nm, contra um branco de água.

## 2.6 Determinação de fenóis totais em óleo essencial

Inicialmente foi diluído o óleo essencial das três frações, em separado, em 5 mL de metanol.

A partir da solução estoque, fizeram-se diluições até obter solução de 250 µg/mL. Com esta concentração, foi transferido 01 mL para um tubo de ensaio e reduzido o volume em 50%. Com aproximadamente 0,5 mL de amostra, foi adicionado a ele 2,5 mL de Folin Ciocalteu 10%, adicionou-se também 2,0 mL de carbonato de sódio 7,5%. A solução formada foi levada ao banho-maria 50° C por 5 min, retirada e deixada para esfriar; e, então, foi realizada a leitura em espectrofotômetro manual, em comprimento de 760 nm, contra um branco.

O mesmo procedimento descrito foi realizado para os extratos etanólicos e hidroalcoólicos.

## 2.7 Construção da curva de calibração do DPPH

Primeiramente, foram preparados 50 mL de solução estoque de DPPH em metanol na concentração de 40 µg/mL, mantida sob refrigeração e protegida da luz. Foram feitas diluições de 35, 30, 25, 20, 15, 10, 05 e 01 µg/mL. A curva de calibra-

ção foi construída a partir dos valores da absorvância a 515 nm de todas as soluções, medidas em cubetas de quartzo em espectrofotômetro, tendo como branco o metanol. As absorvâncias foram lidas em triplicata em intervalos de 1 min entre cada leitura.

## 2.8 Determinação da atividade antioxidante em óleo essencial

O óleo essencial foi diluído nas seguintes concentrações: 250, 200, 150, 100, 50, e 25 µg/mL. A partir das seguintes concentrações foi transferido para um tubo de ensaio, 0,3 mL de cada solução juntamente com 2,7 mL de solução estoque de DPPH na concentração de 40 µg/mL. Esta solução formada foi levada ao espectrofotômetro para realizar-se a leitura contra um branco utilizando 2,7 mL de metanol e 0,3 mL de amostra em cada concentração. A absorvância foi mensurada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 515 nm, sendo realizada as leituras no 1°, 5° e 10° min, a cada 10 min até completar 01 h.

## 2.9 Determinação da atividade microbiana dos extratos e do óleo essencial

Para a determinação da atividade microbiana, foram utilizadas às cepas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e *Enterococcus faecalis* ATCC 99212, adquiridas da Newprov Produtos para Laboratórios, Pinhais-Pr.

As bactérias foram incubadas em caldo BHI por 24 h, após esse período foi coletado 01 swab de cada bactéria e estriado em placas com meio agar Muller Hinton.

Os discos contendo as amostras extratos etanólico e aquoso, e óleos essenciais, das três frações do fruto, foram preparados com discos de papel filtro estéreis, colocados em imersão nas amostras e armazenados em frascos previamente esterilizados.

Os discos contendo os extratos e óleos essenciais foram colocados nas placas, sobre as es-

trias, mantendo espaçamento entre eles. Para que não ocorresse interferência, os óleos e os extratos foram colocados em placas diferentes, porém abrangendo as 04 bactérias em todas as amostras.

Com as placas já estriadas e com os discos, as placas foram incubadas invertidas a temperatura de  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ , sendo realizadas leituras de medição dos halos a cada duas horas até completar 24 h de incubação.

Após as 24 h de incubação foi retirada uma pequena parte dos halos formados e colocados em caldo BHI, então incubados por mais 24 h a fim de verificar o crescimento e determinar a ação da amostra.

### 3 Resultados e Discussão

O doseamento do óleo essencial foi realizado pela diferença de peso do balão previamente seco e após com óleo essencial em peso constante. O fruto uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess) apresentou, para 10 g de fruto refrigerado, o rendimento de 1,23% de óleo essencial na casca, 0,725% na casca com polpa e 0,39% na semente.

#### 3.1 Testes fitoquímicos qualitativos

Os testes fitoquímicos foram realizados com o intuito de verificar se os extratos aquosos, etanólico e hidroalcoólico do fruto da uvaia apresentavam resultados positivos quanto à presença de compostos fenólicos. De acordo com a metodologia seguida, não foram detectados compostos fenólicos nas frações testadas no fruto da uvaia. Cabe ressaltar que este método é qualitativo e que concentrações muito baixas de compostos fenólicos podem resultar em falso negativo.

#### 3.2 Determinação de fenóis totais

A quantificação espectrofotométrica de compostos fenólicos é realizada por meio de uma variedade de técnicas, todavia a que utiliza o reagente Folin-Ciocalteu apresenta-se como a mais

extensivamente utilizada. Esse reagente consiste de uma mistura dos ácidos fosfomolibdídicos e fosfotungstídicos, a qual o molibdênio e o tungstênio se encontram no estado de oxidação  $6^{+}$ . Na presença de agentes redutores, como os compostos fenólicos, ocorre a redução dos compostos que constituem o reagente e, assim, pela coloração azul de ambos é possível determinar a concentração destas substâncias redutoras no meio, podendo ser ou não provenientes de natureza fenólica [7].

A quantificação das substâncias ativas foi determinada pela equação da curva de calibração, obtida para o padrão de ácido gálico em Folin-Ciocalteu, plotando-se os valores de absorbância contra as concentrações.

A análise das amostras foi realizada para os óleos essenciais do fruto de uvaia, nas 03 frações, na concentração de  $250\text{ }\mu\text{g/mL}$ , e para os extratos etanólico e hidroalcoólico. Analisando os resultados obtidos para o óleo de semente e casca com polpa, não foram encontrados compostos fenólicos detectáveis pelo método utilizado.

Algumas considerações se fazem necessárias buscando compreender melhor o resultado obtido. Alguns autores citam que a condição de extração dos compostos fenólicos deve ser exaustiva, chegando a 4 dias de maceração quando trabalha-se com folhas vegetais [22, 3], no entanto os trabalhos que envolvem frutas apontam para procedimentos mais rápidos, de até 30 minutos, como o utilizado no presente trabalho, em condições de solventes semelhantes evitando degradações [10, 23]. Para a análise da amostra casca, a média dos valores de absorbância obtidos na análise foi inferior ao limite de quantificação da metodologia aplicada, que neste caso corresponde ao valor de absorbância, obtido para o primeiro ponto da curva de calibração ( $5\text{ }\mu\text{g/mL}$  de padrão ácido gálico). Com o extrato etanólico e hidroalcoólico, também testados, em todas as 03 frações, foi observado o mesmo comportamento já obtido nas frações do óleo essencial de semente e casca com polpa. Outro fator importante são os limites de detecção empregados. Estudos futuros empregando a técnica de LC/MS podem revelar resultados positivos para fenólicos totais de uvaia por ser uma técnica cujas limites de detecção são mais baixos, da ordem de ng [24].

Não foi realizada a avaliação quantitativa de compostos fenólicos para o extrato aquoso, pois este também apresentou resultado negativo nos testes fitoquímicos e, além disso, extratores hidroalcoólicos para compostos fenólicos são mais eficientes que o meio aquoso [22].

### 3.3 Determinação da atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método DPPH, que consiste em avaliar a atividade seqüestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hirazila – DPPH. Este reagente pode ser reduzido por um antioxidante ou uma

espécie radicalar; quando reduzido forma difenil-picril-hirazina, de coloração amarela, com conseqüente diminuição da absorbância, em relação ao DPPH puro, permitindo assim o seu monitoramento.

A equação da curva de calibração obtida para o DPPH foi  $y=0,0473x$  para  $R^2=0,9917$ . A partir da equação da curva de calibração é possível determinar a porcentagem da atividade antioxidante ou a porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional [7].

A tabela 01 apresenta a Análise de Variância, realizada pelo teste ANOVA, das absorbâncias obtidas para o DPPH frente à amostra, nas três frações, nas concentrações de 250, 200, 150, 100, 50 e 25 µg/mL de óleo essencial:

**Tabela 01:** Análise de Variância das absorbâncias de DPPH frente às amostras:

Varição:	SQ	GL	QM	F calc.	F1%,7,100
Entre	0,289	7	0,0041	3,03 x 10 <sup>-3</sup>	2,82
Dentro	95,2791	100	0,9528		
TOTAL	95,5681	107			

SQ: Soma de quadrados; GL: Grau de liberdade; QM: Quadrado médio; F calc.: Fator calculado; F1%,7,100: Fator tabelado

A tabela 01 confirma o já observado nas tabelas de absorbância nos tempos de 01', 05', 10', 11', 15', 20' e assim sucessivamente até completar 60 min de leitura, o qual sugeria que a média entre a primeira e a décima oitava leitura apresentava a leitura no 30º min, e isso se repetia em todas as concentrações da mesma amostra e entre as 03 frações do fruto estudado.

Com o valor de F calculado encontrando-se muito a baixo de 01 comparado ao F tabelado, para  $\alpha=0,1$ , foi concluído que a hipótese estava correta quando admitimos que não houve consumo de DPPH pela amostra em questão.

O Teste de Tukey complementando ANOVA elucidou as diferenças tomando duas a duas as médias de absorbâncias em cada grupo, e, neste caso, apresentou a mesma correlação de diferenças não significativas entre as absorbâncias.

Para  $\alpha=0,05$  foi observado que o valor de  $q$  calculado foi menor que o valor de  $q$  tabelado, para todas as dualidades de média de absorbância, referendando o resultado de  $H_0 = \mu_A = \mu_B$ , ou seja,

a diferença entre as populações não é significativa.

Os resultados para compostos fenólicos e para atividade antioxidante serem negativos, eles concordam entre si, uma vez que em geral extratos ricos em compostos fenólicos apresentam também atividade antioxidante, o que é referendado na literatura pois os dois métodos, Folin-Ciocalteu e DPPH, apresentam similaridade química [23, 25]. No entanto os resultados indicam que os teores de fenólicos totais da uvaia diferem de outras frutas da mesma família, como a pitanga e cagaita, com teores de 14 mg /100 g e 150 mg /100 g da fruta respectivamente [4, 23]. O uso de outro método de avaliação da atividade antioxidante é sugerido, como o sistema b-caroteno/ácido linoleico, que avaliará a habilidade de um composto em proteger moléculas biológicas da oxidação como em sistemas que ocorrem em um alimento [23].

### 3.4 Determinação da atividade microbiana

A atividade microbiana dos óleos essenciais é frequentemente testada, já que muitos estudos relatam a capacidade que alguns compostos químicos voláteis presentes neles apresentam quanto à inibição ou até mesmo à destruição de microorganismos patógenos ao ser humano ou mesmo responsáveis pela diminuição do tempo de prateleira de um enorme número de alimentos.

A tabela 02 apresenta os resultados obtidos a partir de halos de inibição das 03 amostras nas suas diferentes frações. Foram tomados como positivos (+) os resultados que apresentavam repetições de halos, independente de suas medidas, e negativos (-) os resultados sem repetições.

Através da tabela 02 é possível observar que o extrato etanólico e o óleo essencial, ambos com utilização de solvente, apresentaram maior sensibilidade pelas bactérias; mas, esse resultado deve ser analisado em comparação ao disco con-

trole – solvente – pois este pode ter sido o responsável direto pela inibição, ou então indiretamente, onde teria a função de extrair os compostos capazes de inibir o crescimento bacteriano em determinada área.

A bactéria B1 apresentou resultado positivo de inibição em relação ao óleo essencial da casca de uvaia e este resultado foi mantido até às 21 h de incubação. Os demais discos desta bactéria não podem ser considerados devido à positividade no disco controle – solvente.

Comparando a média de tamanho do halo de inibição do óleo essencial da casca frente à bactéria *Enterococcus faecalis* com os halos, apresentados na tabela de Cefar Diagnóstica Ltda [26], dos antibióticos Ampicilina, Eritromicina e Vancomicina (utilizados frequentemente em patologias causadas por este microrganismo) ele encontra-se na zona de resistência desta bactéria, confirmando assim a última análise, que apresentou atuação bacteriostática.

**Tabela 02:** Ação das diferentes amostras frente às bactérias:

	O.E.				E.E.				E.A.			
	C	S	CP	Sv	C	S	CP	Sv	C	S	CP	
16h												
B1	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
B2	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-
B3	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
B4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18h												
B1	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
B3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
B4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21h												
B1	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
B2	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+
B3	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+
B4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23h												
B1	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
B2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
B3	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
B4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25h												
B1	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
B2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
B3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

O.E: Óleo essencial; E.E.: Extrato etanólico e E.A.: Extrato aquoso. C: casca; S: semente; CP: casca com polpa e Sv: solvente. B1: *Enterococcus faecalis*; B2: *Escherichia coli*; B3: *Staphylococcus aureus* e B4: *Pseudomonas aeruginosa*.

A mesma bactéria, *E. faecalis*, mostrou-se sensível também ao extrato aquoso das três frações de uvaia, sendo que a amostra CP se mostrou eficaz até 25 h de incubação, já as outras 02 frações, C e P, apenas até 21 h. Em relação ao tamanho do halo, a resposta se deu da mesma forma ao teste explanado anteriormente.

A bactéria B2, *E. coli*, apresentou sensibilidade no extrato etanólico na amostra CP, durante todo o período de incubação. Com relação aos halos de inibição, a cepa apresenta-se na área de resistência, segundo a tabela de Cefar Diagnóstica Ltda.

É possível observar que a ação inibitória dos extratos e do óleo essencial de uvaia foi diminuindo em função do tempo, embora algumas amostras tenham mantido a inibição das cepas por um período de até 18 h, mesmo assim sua ação foi vencida em algum momento.

Os mesmos óleos e extratos de uvaia foram testados em cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, e como se pode observar na tabela 02 não apresentaram resultado positivo em nenhuma das amostras testadas e também não apresentaram alterações durante o tempo de leitura.

Após as 25 h de leitura dos halos de inibição, as amostras que mantiveram os halos foram testadas novamente, utilizando caldo BHI, e com leitura em 24 h de incubação. Com relação à turbidez do meio, foi constatado que todas as amostras apresentaram ação bacteriostática em todas as cepas.

#### 4 Conclusão

Os resultados obtidos apresentaram pequena correlação com os já relatados a frutos similares, como a pitanga e a cagaita. Os resultados da atividade antioxidante demonstraram que a uvaia não é uma fonte apreciável destes compostos, o que esta de acordo com o doseamento dos compostos fenólicos, que não foram detectados em quantidades quantificáveis no método empregado. Com relação à avaliação microbiológica, todas as cepas apresentaram atividade bacteriostática, exceto a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*, que não apresentou alterações durante o tempo de leitura. A bactéria *Enterococcus faecalis* destacou-se apresentando elevado intervalo de ação inibitória, superior a 24 h de incubação, no óleo essencial da casca de uvaia, incentivando novos estudos que visem a utilização do óleo para aumentar o tempo de prateleira de produtos alimentícios, que, em geral, apresentam elevada taxa de contaminação por esta bactéria.

Essential oils of uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess): evaluation of the microbiological and antioxidant activities

Received November 03 2008

Accepted 04 2008

---

**Abstract:** The generation of free radicals, result of the energy production metabolic processes, leads to a high number of illnesses. For that an increased interest is directed to antioxidants that can be found in fruits and vegetables and are responsible for the capture of these radicals. Moreover, application of fruits extracts and oils in the microbiological control justify the growth of the scientific studies of these raw materials. In this context the present work analyzed essential oils in different parts of uvaia fruit (*Eugenia pyriformis*) concerning microbiological activity, total phenols and antioxidant properties. Frozen fruits were analysed and higher contents of essential oils were found in the rind (1.23%), followed for the fraction rind-pulp. The lower content was found in seeds. Bacteriostatic action was observed for *Scherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosas* ATCC 27853 and *Enterococcus faecalis* ATCC99212. Low values for total phenol ( $<5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ) hindered analysis. No antioxidant activity could be observed.

**Keywords:** microorganisms, essential oil, DPPH, uvaia.

---

#### 5 Referências bibliográficas

[1] R. P. Costa, G. Menedez, L. P. Bricarello, M. C. Elias, M. Ito, Revista da Sociedade de Cardiologia Estado de São Paulo. 10 (2000) 13.

[2] R. Roesler, L. G. Malta, L. C. Carrasco, R. B. Holanda, C. A. S. Sousa, G. M. Pastore, Ciência e Tecnologia de Alimentos. 27 (01) (2007) 07.

[3] D. A. Silva, T. M. S. Silva, A. C. S. Lins, D. A. Costa, J. M. S. Cavalcante, W. N. Matias, M. F. Souza, Química Nova. 29 (06) (2006) 04.

- [4] V. L. A. Lima, E. A. Melo, M. S. Maciel, G. S. B. Silva, D. E. S. Lima, *Revista de Nutrição*. 17 (1) (2004) 07.
- [5] H. G. Rodrigues, Y. S. Diniz, L. A. Faine, J. A. Almeida, A. A. H. Fernandes, E. L. B. Novelli, *Revista de Nutrição*. 16 (2003) 05.
- [6] S. E. Soares, *Revista de Nutrição*. 15 (01) (2002) 10.
- [7] C. M. M. Sousa *et al.*, *Química Nova*. 30 (02) (2007) 04.
- [8] R. M. Melo, V. F. S. Corrêa, A. C. L. Amorim, A. L. P. Miranda, C. M. Rezende, *Brazilian Chemistry Society*. 18 (01) (2007) 04.
- [9] S. M. Morais, F. E. A. C. Junior, A. R. A. Silva, J. Stone, M. Neto, D. Rondina, J. H. L. Cardoso, *Química Nova*. 29 (05) (2006) 03.
- [10] F. C. Assolini, A. M. Tedesco, S. T. Carpes, C. Ferraz, S. M. Alencar, *Brazilian Journal of Food Technology*. 9 (3) (2006) 06.
- [11] L. M. Bertini, A. F. Pereira, C. L. L. Oliveira, E. A. Menezes, S. M. Morais, F. A. Cunha, E. S. B. Cavalcanti, *Infarma*. 17 (4) (2005).
- [12] A. C. Siani, A. L. F. Sampaio, M. C. Sousa, M. G. M. O. Henriques, M. F. S. Ramos, *Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*. 03 (16) (2000) 05.
- [13] M. P. Correa, *Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, (1975).
- [14] R. S. M. Silva, L. J. Chaves, R. V. Naves, *Revista Brasileira de Fruticultura*. 25 (02) (2001) 04.
- [15] C. V. Silva, D. A. C. Bília, A. M. Maluf, C. J. Barbedo, *Revista Brasileira de Botânica*. 26 (02) (2003) 08.
- [16] G. L. CRUZ. *Dicionário das plantas úteis do Brasil* 3 ed. (1985).
- [17] F. J. Fabrowski. Tese (doutorado em Engenharia Florestal). UFPR, Curitiba (2002) 225.
- [18] J. Franco, T. Nakashima, L. Franco e C. Boller, *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 15 (3) (2005) 191.
- [19] M. E. A. Stefanello, A. Wisniewski Jr, E. L. Simionatto e A. C. Cervi, *Latin American Journal of Pharmacy*. 28 (3) (2009) 449.
- [20] F. R. B. Turbiani. Dissertação (mestrado em Engenharia Química). UNCAMP (2007).
- [21] T. Nakashima. Tese (doutorado - Institut Natiol Polytechnique de Toulouse) França (1993).
- [22] A. L. Oliveira, A. D. Padilha, G. G. Ortega, P. R. Petrovick, *Caderno de Farmácia UFRGS*. 17 (01) (2001) 05.
- [23] M.I. Genovese, M. Da Silva Pinto, A.E. De Souza Schmidt Gonçalves and F.M. Lajolo, *Food Science and Technology International*. 14 (2008) 207.
- [24] S. A. L. Morais; F. J. T. Aquino; P. M. Nascimento; E. A. Nascimento; R. Chang. *Química Nova*. 32 (2) (2009) 153.
- [25] D. Huang, B. Ou and R. L. Prior, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (2005) 1841.
- [26] Cefar Diagnóstica Ltda, *Tabela Para Identificação de Halos de Inibição - Antiobiograma*. Jurubatuba, São Paulo.