

# COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Alpinia zerumbet* (COLÔNIA)

**Francisco Rogênio da Silva MENDES (1); Francisca Gleiciane Eloi da SILVA (1); José Galberto Martins COSTA (2); João Carlos da Costa ASSUNÇÃO (1)**

(1) Instituição Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará-Campus Quixadá, Estrada do Cedro Km 05, Quixadá-Ceará, CEP 63.900-000, (88) 34120111, e-mail: [joaocarlos@ifce.edu.br](mailto:joaocarlos@ifce.edu.br)

(2) Universidade Regional do Cariri, Rua Cel. Antônio Luiz 1161, Pimenta, Crato-Ceará, CEP 63105-000, Fax: +55 (88) 31021212, e-mail: [galberto.martins@urca.br](mailto:galberto.martins@urca.br)

## RESUMO

O surgimento cada vez maior de parasitas patogênicos resistentes a drogas convencionais vem atraindo a atenção nos últimos anos. Os fitoterápicos, alternativa promissora as drogas convencionais, estão sendo pesquisados vastamente. Os óleos essenciais fazem parte deste novo grupo de medicamentos naturais que vêm sendo estudados. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição química do óleo essencial das folhas da espécie *Alpinia zerumbet* (conhecida popularmente por colônia) e avaliar a atividade antibacteriana do seu óleo essencial. O estudo da composição química do óleo essencial de *A. zerumbet* foi realizado através de extração por hidrodestilação seguida de análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (CG-EM). A identificação dos constituintes ocorreu através de comparação dos espectros de massa e do índice de retenção ajustados utilizando dados da literatura. Os componentes majoritários identificados foram: 4-terpineol (36,40%), 1,8-cineol (22,59%),  $\gamma$ -terpinoleno (11,38%) e p-cimeno (7,43%). Os testes antibacterianos foram realizados com 12 cepas bacterianas padrões ou isolados clínicos multirresistentes a partir de escarro ou ferida cirúrgica, sendo 8 Gram (+) e 4 Gram (-). Os resultados indicaram que as cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Escherichia coli* (ATCC 27) foram as mais sensíveis ao óleo essencial, exibindo concentração inibitória mínima (CIM) de 32 e 128  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente.

**Palavras-chave:** *Alpinia zerumbet*, óleo essencial, 4-terpineol, antibacteriana.

## 1 INTRODUÇÃO

As ervas medicinais tem sido amplamente usadas na medicina popular para fins curativos. Além disso, representam uma importante fonte de obtenção de princípios ativos aplicados na produção de medicamentos, utilizados no tratamento de várias doenças. Este grande potencial biológico das plantas é devido à ampla quantidade de substâncias químicas que as compõem. Dentre os componentes orgânicos das plantas, existem os aromáticos, que fazem parte do óleo essencial responsável pela fragrância, característica de cada planta.

Os conhecimentos sobre a existência dos óleos essenciais datam desde alguns séculos antes de Cristo. Existem referências históricas de uso e obtenção desses óleos, por antigas civilizações orientais, com expressivo destaque para as sociedades egípcia, persa, chinesa e indiana.

Os óleos essenciais são misturas de compostos voláteis odoríferos insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos, apresentam grande importância terapêutica e econômica. São obtidos por diversas técnicas de extração, dentre as quais se destacam a hidrodestilação e o arraste a vapor. Esses óleos podem ser extraídos, de várias partes da planta, folhas, flores, frutos, sementes, raízes e caule. Localizam-se geralmente em estruturas secretoras especializadas, tais como: células parênquimais diferenciadas, pêlos glandulares, canais oleíferos, entre outras. Essas estruturas podem estar localizadas em local específico ou em toda a planta.

Este estudo foi realizado com *Alpinia zerumbet*, conhecida popularmente por colônia, paco-seroca, coité-açu, pacova ou vindicá. Pertence à família Zingiberaceae, constituída de 53 gêneros e mais de 1200 espécies nativas das florestas tropicais, principalmente nas regiões Sul e Sudeste da Ásia e na América do Sul e Central.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

*Alpinia zerumbet* (Figura 1), conhecida popularmente por colônia, é uma planta parente do gengibre, herbácea, rizomatosa, que atinge 2 ou 3 metros de altura. Suas folhas são aromáticas, longas, largas e brilhantes. As flores, que surgem no verão e outono, são róseas e brancas, agrupadas em inflorescências semi-pendentes e apresentam aroma suave e agradável. O fruto é do tipo cápsula, de formato globoso e abriga diversas sementes. A propagação da colônia se dá por meio da divisão de rizomas. Planta de clima ameno necessita de luz solar plena ou meia-sombra com pelo menos 4 horas de sol por dia. O solo indicado para o cultivo deve ser rico em matéria orgânica e apresentar boa drenagem. *Alpinia zerumbet* gosta de regas espaçadas e não se dá bem em solo encharcado.



Figura 1 – Folhas de *Alpinia zerumbet*

A composição química de *A. zerumbet* é rica em monoterpenos como: 4-terpineol, 1,8-cineol,  $\gamma$ -terpineno, sabineno, entre outros (PINHO et al., 2005; LEAL-CARDOSO et al., 2004). Estudos de atividade biológica do óleo essencial de *A. zerumbet* demonstraram um importante potencial farmacológico deste material. Efeitos do óleo essencial de *A. zerumbet* no controle da pressão arterial, na musculatura lisa do intestino e como anestésico local foram registrados (LEAL-CARDOSO e FONTELES, 1999; BEZERRA et al., 2000; LAHLOU, GALINDO e LEAL-CARDOSO, 2002; GHELARDINI et al., 1999). Essas atividades são atribuídas aos componentes químicos encontrados nestes óleos essenciais.

A atividade antibacteriana é uma importante característica que deve ser vastamente estudada visto que um número cada vez maior de microorganismos resistentes as drogas sintéticas vem surgindo. A literatura relata a utilização de vários tipos de óleos essenciais no combate destes microorganismos resistentes. Estudos realizados com óleo de *Alpinia zerumbet* em várias regiões do mundo têm comprovado sua atividade antimicrobiana (WANG e HUANG, 2005).

O presente trabalho relata o estudo da composição química do óleo essencial de *A. zerumbet* através de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa, bem como, de sua atividade antibacteriana contra microorganismo Gram positivos e Gram negativos utilizando método colorimétrico.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Material vegetal

As folhas de *A. zerumbet* (180 g) foram coletadas no sítio São Bento, município de Baturité-Ceará em setembro de 2009, sempre em horário matinal. Após a coleta o material foi acondicionado em temperatura média de 15 °C em refrigerador dentro de saco plástico, mantendo as folhas frescas. A planta está em fase de identificação botânica no Herbário Prismo Bezerra (Universidade Federal do Ceará).

#### 3.2 Extração do óleo essencial de *Alpinia zerumbet*

O óleo essencial de *A. zerumbet* foi obtido através de hidrodestilação em doseador tipo Cleavenger, utilizando 180 g de folhas. As folhas *A. zerumbet* recém coletadas foram colocadas num balão de vidro de 1 L, juntamente com água destilada e mantido por 2 h horas em ebulição. Após este período, a mistura água/óleo armazenada no doseador foi coletada num frasco limpo e, com o auxílio de uma pipeta, foi retirada a água; o óleo coletado foi seco com sulfato de sódio anidro e filtrado, fornecendo 0,4 mL do óleo (0,2% m/m de rendimento). O óleo essencial obtido foi analisado através de Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM), modelo CG 17A e EM QP5050A da Shimadzu, equipado com coluna capilar OV-5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). As Condições experimentais foram: ionização por impacto de elétrons a 70 eV; injetor no modo split (1:6); hélio como gás de arraste e fluxo de 1 ml/min; gradiente crescente de temperatura de 4 °C/min de 40 a 180 °C, e 20 °C/min de 180 a 280 °C e mantida nesta temperatura por 10 minutos; temperatura do injetor 250 °C e a do detector 280 °C.

#### 3.3 Atividade Antibacteriana do óleo essencial de *Alpinia zerumbet*

A atividade antibacteriana do óleo essencial foi avaliada através do método de microdiluição, com base no documento M7-A6 do NCCLS (NCCLS, 2003). No ensaio foram utilizadas oito linhagens de bactérias Gram (-) e quatro Gram (+), sendo estas linhagens padrão e isolados clínicos multirresistentes: *Escherichia coli* (27) (a partir de escarro) e *Staphylococcus aureus* (358) de ferida cirúrgica.

Previamente aos testes, as cepas bacterianas foram ativadas em meio Brain Heart Infusion Broth (BHI 3,8%) para o crescimento bacteriano (24 h, 35 ± 2 °C). Após este subcultivo, o inóculo foi padronizado a partir de uma suspensão bacteriana a uma concentração final de aproximadamente 1 x 10<sup>8</sup> UFC/mL (0,5 unidades de turbidez nefelométrica- escala McFarland). Em seguida, esta suspensão foi diluída a 1 x 10<sup>6</sup> UFC/mL em caldo BHI a 10%, e volumes de 100 µL foram adicionados e então homogeneizados nos poços de uma placa de microdiluição acrescido de diferentes concentrações do óleo, resultando num inóculo final de 5 x 10<sup>5</sup> UFC/mL (NCCLS, 2003).

O óleo essencial foi diluído em água destilada e dimetilsulfóxido (DMSO) a uma concentração de 1.024 µg/mL. Outras diluições seriadas foram realizadas através da adição de caldo BHI para alcançar uma concentração final no intervalo de 512 a 8 µg/mL. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e as placas de microdiluição foram incubadas a 35 ± 2 °C por 24 h. A atividade antibacteriana foi detectada através do método colorimétrico pela adição de 25 µL de solução de resazurina (0,01%) após o período de incubação (SALVAT et al., 2001). A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração de óleo essencial capaz de inibir o crescimento de bactérias, como indicado pela coloração da resazurina.

## 4 RESULTADOS

Os componentes do óleo essencial foram identificados em quase sua totalidade (89%). Os resultados da análise encontram-se na Tabela 1. Pôde-se verificar que o óleo essencial de *A. zerumbet* apresenta grande predominância de monoterpenos, 4-terpineol (36,40%), 1,8-cineol (22,59%),  $\gamma$ -terpinoleno (11,38%) e p-cimeno (7,43%). Estes quatro componentes correspondem a aproximadamente 78% do total da composição química do óleo. Os componentes foram identificados através de seus índices de retenção ajustados (KI), comparação com outros espectros de massa da literatura (ADAMS, 2007).

**Tabela 1 – Composição química do óleo essencial de *Alpinia zerumbet***

COMPOSTO	Tr (min.)	KI <sub>calc.</sub>	KI <sub>literat.</sub>	COMPOSIÇÃO%
$\alpha$ -tujeno	7,876	928,6	930	2,51
$\alpha$ -pineno	8,088	934,4	939	1,32
sabineno	9,406	971,1	975	1,92
$\beta$ -pineno	9,515	974,1	979	3,39
mircenol	10,02	988,1	990	0,68
$\alpha$ -terpineno	10,929	1013,4	1017	1,34
<b>p-cimeno</b>	<b>11,232</b>	<b>1021,8</b>	<b>1024</b>	<b>7,43</b>
<b>1,8-cineol</b>	<b>11,506</b>	<b>1029,4</b>	<b>1031</b>	<b>22,59</b>
<b><math>\gamma</math>-terpinoleno</b>	<b>12,54</b>	<b>1058,1</b>	<b>1059</b>	<b>11,38</b>
terpinoleno	13,579	1087,0	1088	1,23
N.I.	13,927	1096,7	-	0,48
linalool	14,017	1099,2	1096	1,38
p-ment-2-en-1-ol	14,803	1121,0	1121	0,98
N.I.	15,511	1140,7	-	0,69
<b>4-terpineol</b>	<b>17,096</b>	<b>1184,7</b>	<b>1177</b>	<b>36,40</b>
$\alpha$ -terpineol	17,421	1193,8	1188	1,98
trans-cariofileno	25,513	1418,6	1419	1,60
óxido de cariofileno	30,691	1562,4	1576	2,70

TR: tempo de retenção em minuto; KI<sub>calc.</sub>: índice de retenção calculado por regressão linear; KI<sub>literat.</sub>: índice de retenção da literatura (ADAMS, 2007)

O óleo essencial de *A. zerumbet* (OEC) exibiu atividade frente a todas as linhagens de microorganismos testadas. Os melhores resultados foram observados para a linhagem Gram positiva *S. aureus* (ATCC 6538) e para *E. coli* (27) com concentrações inibitórias mínimas (CIM) de 32 e 128  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Os resultados das CIM são mostrados na Tabela 2.

**Tabela 2 – Concentrações inibitórias mínima (CIM) do óleo essencial de *Alpinia zerumbet***

<b>Linhagens</b>	<b>CIM (µg/mL)</b>
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 12692)	≥1024
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 12624)	256
<b><i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538)</b>	<b>32</b>
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC)	512
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	≥1024
<b><i>Escherichia coli</i> (ATCC 27)</b>	<b>128</b>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC )	≥1024
<i>Aeromonas caviae</i> (15468)	256
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (10031)	256
<i>Shigella flexneri</i> (12022)	512
<i>Vibrio cholerae</i> (15748)	≥1024
<i>Listeria monocytogenes</i> (19117)	256

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A composição química do óleo essencial de *A. zerumbet* coletada na cidade de Baturité-Ceará mostrou-se semelhante a registrada na literatura. Os monoterpenos foram o grupo químico predominante, tendo o 4-terpineol como constituinte majoritário.

Os resultados dos testes antibacterianos revelaram um potencial relevante do óleo essencial de *A. zerumbet* no combate a microorganismos patogênicos multirresistentes. As bactérias que mostraram maior sensibilidade foram *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) e *Escherichia coli* (ATCC 27).

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) - Campus Quixadá pelo incentivo e apoio financeiro a pesquisa científica.

Ao CNPq pelas bolsas concedidas aos alunos de iniciação científica.

A Universidade Federal do Ceará pelas análises dos óleos essenciais.

## REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. **Identification of essential oils components by gás chromatography/mass spectrometry**. 4. ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2007. 804 p.

BEZERRA, M. A. C.; LEAL-CARDOSO, J. H.; COELHO-DE-SOUZA, A. N.; CRIDDLE, D. N.; FONTELES, M. C. Myorelaxant and antispasmodic effects of the essential oil of *Alpinia speciosa* on rat ileum. **Phytother. Res.** 14(7): 549–551, 2000.

GHELARDINI, C.; GALEOTTI, N.; SALVATORE, G.; MAZZANTI, G. Local anesthetic activity of the essential oil of *Lavandula angustifolia*. **Planta Medica.** 65 (8): 700–703, 1999.

LAHLOU, S.; GALINDO, C. A. B.; LEAL-CARDOSO, J. H., et al. Cardiovascular effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* leaves and its main constituent, terpinen-4-ol, in rats: role of the autonomic nervous system. **Planta Medica.** 68 (12): 1097–1102, 2002.

LEAL-CARDOSO, J. H.; FONTELES, M. C. Pharmacological effects of essential oils plants of the Northeast of Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências.** 71(2): 207–213, 1999.

LEAL-CARDOSO, J. H.; MOREIRA, M. R.; CRUZ, G. M. P.; MOARIS, S. M.; LAHLOU, M. S.; COELHO-DE-SOUZA, A. N. Effects of essential oil of *Alpinia zerumbet* on the compounds action potential of the rat sciatic nerve. **Phytomedicine.** 11: 549–553, 2004.

National Committee for Clinical Laboratory Standards; Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for bacteria that grow aerobically, Approved Standard M7-A6, 6<sup>th</sup> ed., NCCLS: Wayne, 2003.

PINHO, F. V. S. A.; COELHO-DE-SOUZA, A. N.; MORAIS, S. M.; SANTOS, C. F.; LEAL-CARDOSO, J. H. Antinociceptive effects of the essential oil of *Alpinia zerumbet* on mice. **Phytomedicine.** 12: 482–486, 2005.

SALVAT, A.; ANTONNACCI, L.; FORTUNATO, R. H.; SUAREZ, E. Y.; GODOY, H. M. Screening of some plants from North Argentina for their antimicrobial activity. **Letters in Applied Microbiology.** 32 (5): 293–297, 2001.

WANG, Y. C.; HUANG, T. L. Screening of anti-*Helicobacter pylori* herbs deriving from Taiwanese folk medicinal plants. **FEMS Immunology and Medical Microbiology.** 43 (2): 295–300, 2005.