



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

RAQUEL MORAES PESSOA SILVA MACHADO

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS
COMERCIALIZADOS DE *Melaleuca alternifolia***

BRASÍLIA

2024

RAQUEL MORAES PESSOA SILVA MACHADO

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS
COMERCIALIZADOS DE *Melaleuca alternifolia***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para conclusão da graduação em Farmácia e título de Bacharel em Farmácia, pela Universidade de Brasília, junto a Faculdade de Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dra. Sílvia Ribeiro de Souza

BRASÍLIA

2024

RAQUEL MORAES PESSOA SILVA MACHADO

**AVALIAÇÃO QUÍMICA E ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS ESSENCIAIS
COMERCIALIZADOS DE *Melaleuca alternifolia***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para conclusão da graduação em Farmácia e título de Bacharel em Farmácia, pela Universidade de Brasília, junto a Faculdade de Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof.^a Dra. Sílvia Ribeiro de Souza

RESUMO

A crescente resistência de microrganismos patogênicos a formas de tratamento convencionais vem impulsionando a indústria de medicamentos a buscar novas formulações eficientes e seguras. Nesse contexto, as plantas configuram um importante campo de estudo. Uma das plantas bastante promissora é a *Melaleuca alternifolia*, conhecida popularmente como “Tea tree”. Possui significativa relevância comercial devido às diversas aplicações de seu óleo essencial, que é matéria prima relevante para as indústrias farmacêutica e cosmética, devido a sua potente atividade antimicrobiana e antifúngica. O presente trabalho teve como objetivo investigar a composição química e avaliar a capacidade antimicrobiana de duas marcas comerciais de óleo essencial de *Melaleuca* frente à dois microrganismos patogênicos: *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. A análise por Cromatografia Gasosa Acoplada à Ionização de Chama (CG-DIC) demonstrou uma presença expressiva do hidrocarboneto Terpen-4-ol, seguido por γ -Terpineno e α -Terpineno. Os óleos apresentaram halos de inibição de 24 mm e 23 mm frente à *Escherichia coli* e de 37 mm e 27 mm frente à *Staphylococcus aureus*. Tais resultados evidenciam a atividade antimicrobiana do óleo essencial, especialmente em relação à microrganismos Gram-positivos, tal como descrito na literatura. O teste de Concentração Inibitória Mínima (CIM) apontou que uma concentração de 10 μ L do óleo é suficiente para se ter ação antimicrobiana satisfatória. Os registros na literatura apontam que quantidades ainda menores são capazes de promover tal ação, sendo necessário, assim, novos testes com concentrações menores do óleo essencial.

Palavras-chave: Óleo essencial, *Melaleuca alternifolia*, atividade antimicrobiana, *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*.

ABSTRACT

The increasing resistance of pathogenic microorganisms to conventional forms of treatment has driven the pharmaceutical industry to seek new, effective, and safe formulations. In this context, plants represent an important field of study. One particularly promising plant is *Melaleuca alternifolia*, commonly known as "Tea tree." It holds significant commercial relevance due to the various applications of its essential oil, which is a key raw material for the pharmaceutical and cosmetic industries, thanks to its potent antimicrobial and antifungal activity. This study aimed to investigate the composition and evaluate the antimicrobial capacity of two commercial brands of *Melaleuca* essential oil against two pathogenic microorganisms: *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Analysis by Gas Chromatography Coupled with Flame Ionization (GC-FID) showed a significant presence of the hydrocarbon Terpinen-4-ol, followed by γ -Terpinene and α -Terpinene. The oils demonstrated inhibition zones of 24 mm and 23 mm against *Escherichia coli* and 37 mm and 27 mm against *Staphylococcus aureus*. These results high light the antimicrobial activity of the essential oil, especially against Gram-positive microorganisms, as described in the literature. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) test indicated that a concentration of 10 μ L of the oil is sufficient to achieve satisfactory antimicrobial action. Literature records suggest that even smaller quantities are capable of promoting such action, necessitating further tests with lower concentrations of the essential oil.

Keywords: Essential oil; *Melaleuca alternifolia*; antimicrobial activity; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	1
LISTA DE TABELAS	2
1. INTRODUÇÃO.....	3
2. OBJETIVOS.....	5
2.1. Objetivo geral	5
2.1. Objetivos específicos	5
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	5
3.1. Óleos Essenciais.....	5
3.2. Cepas Bacterianas	5
3.3. Identificação do perfil químico dos óleos essenciais por CG-DIC	5
3.4. Avaliação da atividade antimicrobiana	6
3.4.1. Teste de difusão em ágar.....	6
3.4.2. Concentração Inibitória Mínima	6
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	7
5. CONCLUSÃO	13
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. <i>Melaleuca alternifolia</i> . Fonte: The Australian Plants Society-NSW	4
Figura 2. Perfis cromatográficos por CG-DIC. (A) Série homóloga de padrões de hidrocarbonetos, C8 a C20, (B) Óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i> (Needs®). (C) Expansão de B	8
Figura 3. Perfis cromatográficos por CG-DIC. (A) Série homóloga de padrões de hidrocarbonetos, C8 a C20, (B) Óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i> (WNF®). (C) Expansão de B	9
Figura 4. Estruturas químicas dos compostos identificados no óleo essencial de Melaleuca. Fonte: PubChem	10
Figura 5. Leitura dos halos de inibição em <i>S. aureus</i> . Fonte: autoria própria	13
Figura 6. Leitura dos halos de inibição em <i>E.coli</i> . Fonte: autoria própria.....	13
Figura 7. Representação dos resultados para MIC para o OE1. Fonte: autoria própria	14
Figura 8. Representação dos resultados de MIC para o OE2 e as concentrações restantes de OE1. Fonte: autoria própria	14

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Distribuição dos volumes de OE, MHB+Tween 80 e suspensão bacteriana nas microplacas. Fonte: autoria própria 7
- Tabela 2.** Demonstração dos Tempos de Retenção (Tr.) de cada composto identificado, seus Índices de Kovats calculados (IK calc.) e encontrados na literatura (IK lit.) bem como suas porcentagens em cada OE analisado. Em negrito estão os compostos com maior expressividade na composição. Fonte: autoria própria..... 10
- Tabela 3.** Concentrações mínimas e máximas dos componentes do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* expressas em porcentagem (%) segundo a ISO-4730. Fonte: ISO-4730. 11
- Tabela 4.** Valores médios dos halos de inibição (mm) apresentados pelos óleos essenciais e pelo padrão frente aos microrganismos. Fonte: Autoria própria 12

1. INTRODUÇÃO

Infecções ocasionadas por microrganismos patogênicos correspondem a uma importante questão de saúde pública. Atualmente, é possível notar um crescimento na resistência de tais microrganismos à antibióticos sintéticos tradicionais, acarretando um significativo impacto tanto na economia quanto na saúde pública de uma população (LUEPKE *et al.*, 2017). A busca por novos compostos seguros e eficientes, caracteriza uma preocupação para a indústria farmacêutica (AIT-SIDI-BRAHIM; MARKOUK; LARHSINI, 2018). Nesse contexto, as plantas e seus metabólitos representam um importante campo de estudo e um relevante recurso econômico.

Os óleos essenciais (OE) são um dos diversos produtos que podem ser obtidos a partir de espécies vegetais. São compostos voláteis e aromáticos, obtidos por hidrodestilação ou destilação por arraste de vapor (BAKKALI *et al.*, 2008). São quimicamente constituídos principalmente por terpenoides e fenilpropanóides (RAUT; KARUPPAYIL, 2014). Possuem uma ampla gama de aplicações em diferentes indústrias, aparecendo na formulação de perfumes, dermocosméticos e produtos de limpeza (ADORJAN; BUCHBAUER, 2010). Sua aplicação na terapêutica se dá devido à suas atividades antifúngicas, antivirais e antimicrobianas (BAKKALI *et al.*, 2008).

Uma importante fonte de óleos essenciais são as plantas pertencentes à família “*Myrtaceae*”. A família compreende cerca de 121 gêneros e mais de 3000 espécies (ANJOS DA SILVA *et al.*, 2023), com predominância em áreas tropicais e subtropicais (GRESSLER; PIZO; MORELLATO, 2006). Divide-se em duas grandes subfamílias: Myrtoidea, com prevalência nas Américas e Leptospermoideae, com prevalência na Austrália, Malásia e Polinésia (VIEIRA *et al.*, 2004). As plantas dessa família possuem forte presença na medicina popular, sendo utilizadas como medicamentos naturais antimicrobianos, antidiarreicos, diuréticos e antiinflamatórios (STEFANELLO; PASCOAL; SALVADOR, 2011). Estima-se que tal gama de atividades se dê por conta dos flavonóides em sua composição (DA VEIGA CORREIA *et al.*, 2022). A *Melaleuca alternifolia*, popularmente conhecida como “*Tea Tree*” ou “árvore do chá”, é uma planta cujo óleo essencial está presente em diversas formulações. Pertencente à família “*Myrtaceae*” é um arbusto aromático de folhas pequenas e pontiagudas originário de áreas pantanosas da Austrália; podendo atingir 5 metros de altura (SILVA *et al.*, 2003) (Figura1). São vastos os relatos de uso medicinal da *Melaleuca* ao longo

da história e, desde meados de 1800 D.C nativos australianos utilizavam extratos da planta como antisséptico para o tratamento de feridas na pele e de mordidas de insetos (IACOVELLI *et al.*, 2023); soldados australianos durante a Segunda Guerra Mundial carregavam o óleo essencial de Melaleuca para o tratamento de feridas superficiais na pele (CORREA *et al.*, 2020).

Atualmente é bastante utilizado pelas indústrias farmacêutica e de cosméticos em formulações tópicas que visam o manejo da acne, lesões cutâneas, cicatrização de feridas (BOROTOVÁ *et al.*, 2022), além de ser também utilizada na odontologia por suas propriedades antimicrobianas potentes (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Figura 1. *Melaleuca alternifolia*



O óleo essencial de Melaleuca (TTO – tea tree oil) é obtido através da destilação a vapor ou da hidrodestilação e é um composto rico em terpenos, sendo os mais notáveis o Terpinen-4-ol, o γ -Terpineno, o α -Terpineno e o 1,8 – cineol (eucaliptol) (CARSON; HAMMER; RILEY, 2006). Tais compostos são responsáveis pela ação anti-inflamatória, antifúngica, antioxidante e antimicrobiana do óleo (NASCIMENTO *et al.*, 2023). A atividade antimicrobiana deste OE vem sendo extensamente estudada como uma via de tratamento para diversas cepas de bactérias resistentes e potencialmente patogênicas (LOPEZ-ROMERO *et al.*, 2015) como as de *Escherichia coli*. e *Staphylococcus aureus*. Desta forma, o presente trabalho visa analisar quimicamente a composição de dois TTO's de duas marcas disponíveis comercialmente, avaliar a atividade antimicrobiana, bem como a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos mesmos perante microrganismos Gram-positivos (*Staphylococcus aureus*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Analisar a composição e atividade antimicrobiana de duas marcas comercializadas de óleo essencial de Melaleuca 100%.

2.2. Objetivos específicos

- Identificar, por meio de Cromatografia Gasosa, os principais compostos presentes em dois óleos essenciais de Melaleuca disponíveis comercialmente;
- Aplicar o teste de difusão em ágar para avaliar a atividade antimicrobiana do óleo de Melaleuca frente a bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*) Gram-negativas (*Escherichia coli*).
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos frente aos dois microrganismos supracitados.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Óleos essenciais

As marcas de óleo essencial adquiridas para o desenvolvimento deste trabalho foram Needs® (Óleo 1) e WNF® (Óleo 2). O rótulo de ambos informava que ambos eram 100% óleos de Melaleuca, sem a adição de qualquer outra substância, não sendo informada a forma de obtenção do óleo essencial.

3.2. Cepas bacterianas

Foram utilizadas as cepas bacterianas *Escherichia coli*. (INCQS 00379) e *Staphylococcus aureus*. (INCQS 00402).

3.3. Identificação do perfil químico dos óleos essenciais por CG-DIC

A identificação dos compostos presentes nos óleos essenciais analisados neste trabalho foi realizada por meio de Cromatografia Gasosa acoplada à Ionização de Chama (CG-DIC). As amostras a serem analisadas foram preparadas por meio de uma diluição na escala 1:1000; pesou-se aproximadamente 10 mg (1 gota) de cada óleo em frascos de vidro, em seguida foram adicionados 10 mL do solvente hexano ao frasco contendo os óleos. Com o auxílio de uma pipeta volumétrica, transferiu-se 1 mL dessa primeira solução para um novo frasco de vidro vazio, que foi completado com 9 mL de hexano. As amostras foram então transferidas para vials de 1,5 ml para terem seu perfil químico analisado no cromatógrafo. O aparelho utilizado neste experimento foi um cromatógrafo GC-FID, Shimadzu® GC-2010 Pro; Coluna SH-5 30mM 0,25mm x 0,25 µm. Injetor Split 250 °C. Volume de injeção: 1.0 µl. Gás de arraste:

Nitrogênio (N₂) a 2,43 mL/min. A temperatura inicial (50°C) se manteve durante os primeiros minutos da análise, alcançando 180 °C aos 7 minutos, 220 °C aos 16 minutos e 260 °C aos 17 minutos, perfazendo um total de 24,42 minutos.

3.4. Avaliação da atividade antimicrobiana

3.4.1. Teste de difusão em ágar

Foi preparada uma suspensão bacteriana a partir da transferência de uma alíquota de repique dos microrganismos testados para tubos de vidro contendo solução salina estéril 0,9% até que a turbidez adequada fosse alcançada. A padronização do inóculo foi realizada a partir da escala 1,0 Mc Farland (3,0 x 10⁸ UFC/mL).

Foram preparadas nove placas de Petri contendo 25mL do meio de cultura ágar Mueller Hinton (MHA) estéril (Kasvi®). Transferiu-se 300 µL das soluções bacterianas padronizadas para as placas contendo o meio de cultura já solidificado. As soluções foram então espalhadas uniformemente com o auxílio de swab estéril. Transferiu-se 10 µL de cada um dos dois óleos essenciais (OE) testados para discos de papel 0,6 mm estéreis. Os discos foram posicionados nas placas de Petri utilizando uma pinça estéril. Foram utilizados também discos contendo o padrão Gentamicina (Diagnósticos microbiológicos especializados - DME). Todas as placas foram incubadas por 24 horas em estufa a 35±2°C. A atividade antimicrobiana foi avaliada a partir da medida dos halos de inibição (em mm) formados ao redor dos discos com uma régua milimetrada.

3.4.2. Concentração Inibitória Mínima

Preparou-se uma suspensão bacteriana a partir do repique dos microrganismos selecionados para o estudo. A alíquota contendo a bactéria foi transferida para tubos de vidro contendo salina estéril 0,9 %. A suspensão foi padronizada até que se atingisse a turbidez adequada segundo a escala 1,0 Mc Farland (3,0 x 10⁸ UFC/mL) e incubada em uma estufa à 35±2°C por 48h. Para esse trabalho foram empregadas as seguintes concentrações de óleo essencial: 100%, 75%, 50%, 25%, 10%, 5%, meio de cultura MHB com 0,5% de Tween 80 da Dinâmica® (a concentração de meio de cultura utilizada variou de acordo com a concentração de óleo) e 10 µL da suspensão bacteriana contendo o microrganismo, totalizando 160 µL em cada poço. Foram utilizadas duas microplacas estéreis com 96 poços; uma para cada OE a ser analisado. O branco foi representado pelos poços A1 e A2, onde foi pipetado apenas MHB (160 µL+ Tween).

Para o controle positivo (poços E1-H1 e E2-H2), foi utilizado 110 μL de MHB + 10 μL do inóculo bacteriano. As seguintes colunas (3 a 8) foram utilizadas para as concentrações de 100% a 5%. As linhas de A até D foram utilizadas para a análise com *S. aureus*; enquanto as linhas E até H para a análise com *E. coli*. Após a pipetagem, as placas foram então incubadas em estufa à $35\pm 2^\circ\text{C}$ por 24. Para a leitura de resultados, utilizou-se o indicador de oxirredução Resazurina; o processo foi realizado em um ambiente com luz mínima. A placa com o agente de oxirredução foi incubada por 3 horas.

Tabela 1. Distribuição dos volumes de OE, MHB+Tween 80 e suspensão bacteriana nas microplacas.

Concentração	Volume de OE (μL)	Volume de MHB + TW 80 (μL)	Volume de microrganismo (μL)
100%	150	0	10
75%	120	30	10
50%	80	70	10
25%	40	110	10
10%	15	135	10
5%	8	142	10

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A identificação dos compostos presentes nos óleos essenciais analisados foi realizada inicialmente através da comparação dos perfis cromatográficos obtidos por CG-DIC com o Índice de Kovats (IK) bem como com o perfil cromatográfico de outras amostras do óleo essencial de Melaleuca analisados anteriormente no laboratório. A partir dos tempos de retenção obtidos, foi calculado os Índices de Kovats (IK) com o auxílio de uma planilha automatizada no Microsoft Office Excel®. Os IK calculados foram então comparados com IK encontrados na literatura para que fosse possível confirmar a identidade dos compostos. Foi possível identificar a presença de 7 compostos diferentes. Apenas um dos compostos (referente ao tempo de retenção de 6,377 segundos) não foi identificado, devido à área referente ao seu pico de retenção ser muito pequena. Essa pode ser considerada uma das limitações desse método – a baixa sensibilidade do equipamento perante analitos em baixas concentrações (HINSHAW, J. V, 2005). Nas figuras 2 e 3 pode se observar os perfis cromatográficos obtidos dos OE 1 e OE2 por CG-DIC, bem como a série homóloga de padrões de hidrocarbonetos.

Figura 2. Perfis cromatográficos por CG-DIC. (A) Série homóloga de padrões de hidrocarbonetos, C8 a C20, (B) Óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (Needs®). (C) Expansão de B.

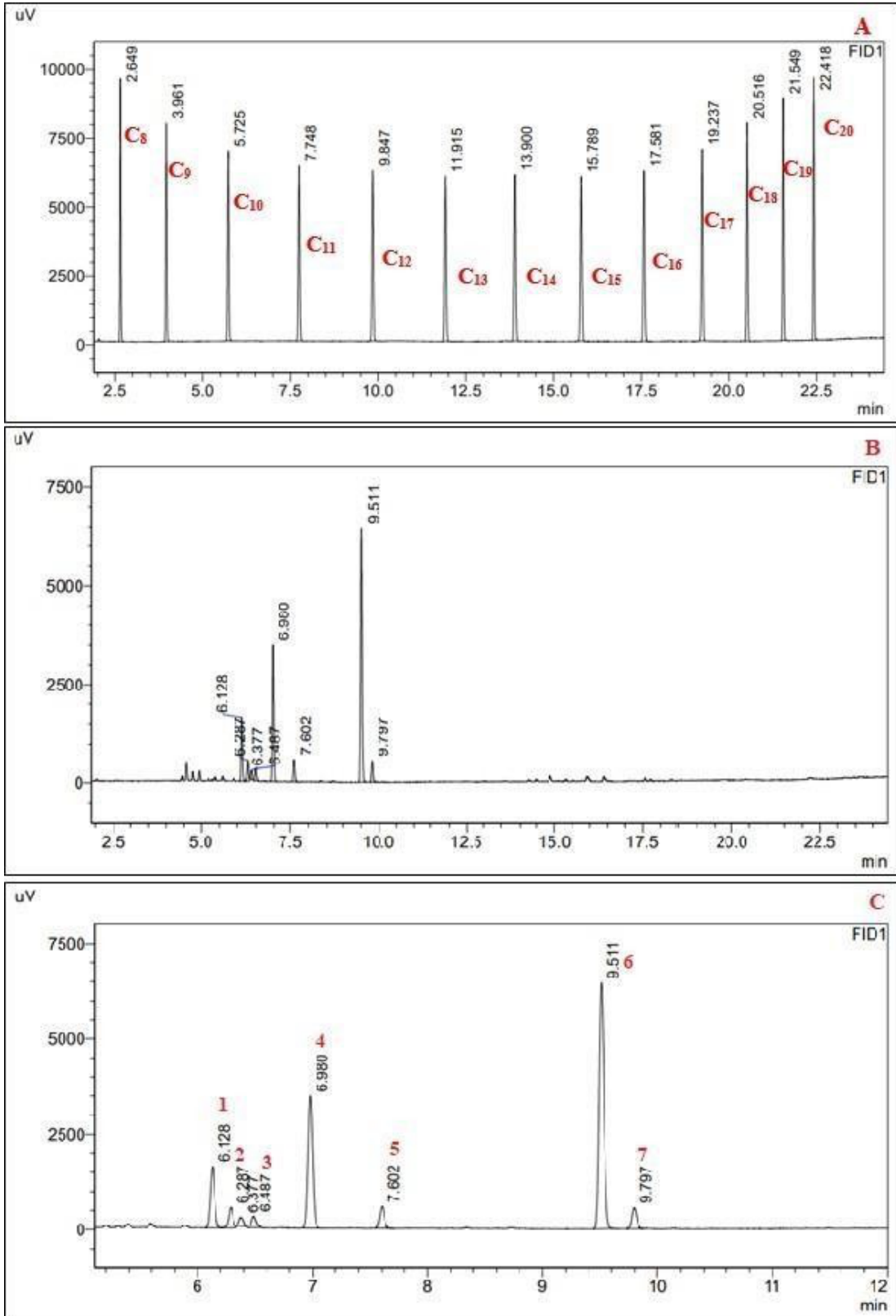


Figura 3. Perfis cromatográficos por CG-DIC. (A) Série homogênea de padrões de hidrocarbonetos, C8 a C20, (B) Óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (WNF®). (C) Expansão de B.

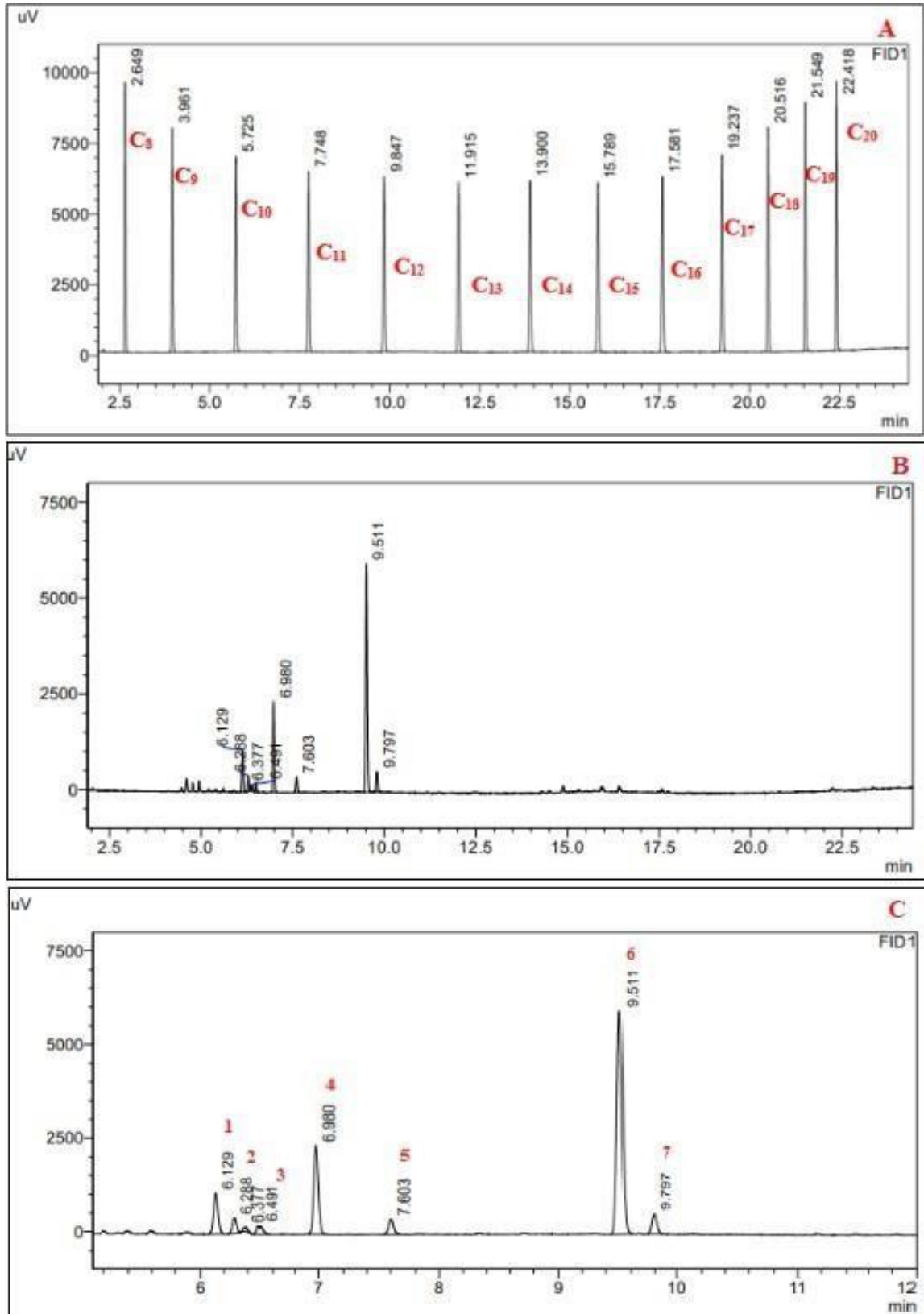
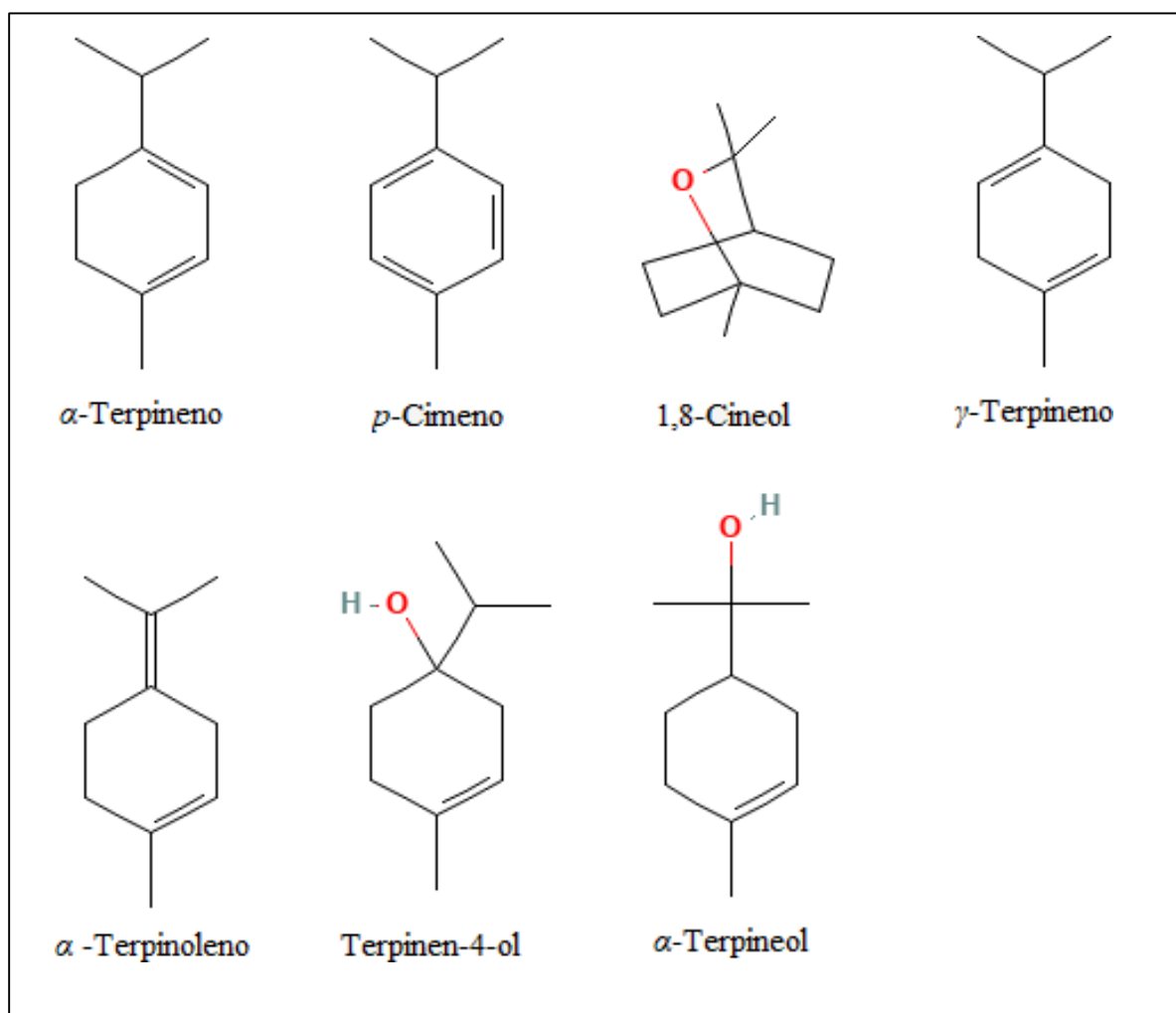


Tabela 2. Demonstração dos Tempos de Retenção (Tr.) de cada composto identificado, seus Índices de Kovats calculados (IK calc.) e encontrados na literatura (IK lit.) bem como suas porcentagens em cada OE analisado. Em negrito estão os compostos com maior expressividade na composição.

Nº	Nome do componente	Tr.	IKcalc.	IKlit.	% (N)	% (F)
1	α -Terpineno	6,1	1020	1018	11,04	9,10
2	<i>p</i> -Cimeno	6.3	1028	1028	3,79	3,20
3	1,8-Cineol	6.5	1038	1038	2,12	2,01
4	γ-Terpineno	7.0	1062	1060	24,10	20,40
5	α -Terpineno	7.6	1093	1090	4,25	3,64
6	Terpinen-4-ol	9.5	1184	1184	49,06	55,90
7	α -Terpineol	9.8	1198	1193	4,17	4,84

Figura 4. Estruturas químicas dos compostos identificados no óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*.



A concentração máxima e mínima de cada composto presente nos óleos essenciais é determinada pela Organização Internacional de Normalização ou Organização Internacional de Padronização (ISO) e demonstram a qualidade do óleo. As concentrações expressas na ISO- 4730, referente ao OE de *Melaleuca alternifolia* estão representadas na tabela 3:

Tabela 3. Concentrações mínimas e máximas dos componentes do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* expressas em porcentagem (%) segundo a ISO-4730.

Nome do componente	Concentração Mínima (%)	Concentração Máxima (%)
α -Pinoeno	1,0	4,0
Sabineno	<0,01	3,5
α -Terpineno	6,0	12,0
Limoneno	0,5	1,5
p-Cimeno	0,5	8,0
1,8-Cineol	<0,01	10,0
γ -Terpineno	14,0	28,0
Terpinoleno	1,5	5,0
Terpinen-4-ol	35,0	48,0
α -Terpineol	2,0	5,0
Aromadendreno	0,2	3,0
Ledeno	0,1	3,0
δ -Cadineno	0,2	3,0
Globulol	<0,01	1,0
Viridiflorol	<0,01	1,0

O Terpinen-4-ol nas amostras analisadas demonstrou estar em concentrações maiores do que a concentração máxima apresentada pela ISO 4730 (TABELA 3). O γ -Terpineno e o 1,8-Cineol estavam de acordo com os limites expressos pela ISO-4730, enquanto a porcentagem de α -Terpineno se encontrava abaixo do mínimo tabelado. É importante ressaltar que diversos fatores podem influenciar nas composições dos óleos essenciais como as condições ambientais durante o cultivo, condições geográficas, a própria genética da planta e os processos extrativos empregados para a sua obtenção (MAHBOUBI, 2019).

O OE 1 apresentou halos de inibição de 23,3 mm e 37 mm para *E. coli*. e *S. aureus*, respectivamente; enquanto os valores do halo de inibição para o OE 2 foram de 22,6 mm e 26,6mm para os mesmos microrganismos (Figuras 5 e 6). Ambos os óleos apresentaram halos com medidas superiores à 14 mm, o que indica que a capacidade antimicrobiana das formulações estudadas é satisfatória (ANVISA, 2019). O padrão Gentamicina (G)

proporcionou a formação de um halo de inibição de 32,6 mm frente a *E. coli* e 32 mm frente a *S. aureus* (TABELA 4).

A inibição de ambos óleos testados foi superior frente a *S. aureus*. Tal resultado está compatível com outros dados encontrados na literatura, sendo relatado que alguns óleos essenciais possuem uma atividade antimicrobiana maior perante microrganismos Gram-positivos (OUSSALAH *et al.*, 2007). A razão na diferença de suscetibilidade de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, ainda não foi totalmente elucidada, porém pressupõe-se que a composição da parede celular desses microrganismos exerça um papel importante nesse resultado (SMITH-PALMER; STEWART; FYFE, 1998). Bactérias Gram-positivas possuem paredes celulares menos complexas, enquanto a membrana celular de bactérias Gram-negativas é constituída principalmente por uma camada de lipopolissacarídeo (LPS) (NAZZARO *et al.*, 2013). No entanto, são necessários mais estudos para confirmar esta hipótese.

Tabela 4. Valores médios dos halos de inibição (mm) apresentados pelos óleos essenciais e pelo padrão frente aos microrganismos.

Amostra	Halo de inibição (mm)
Óleo 1 em <i>Escherichia coli</i>	23,30
Óleo 2 em <i>Escherichia coli</i>	22,60
Óleo 1 em <i>Staphylococcus aureus</i>	37,00
Óleo 2 em <i>Staphylococcus aureus</i>	26,60
Padrão (G) em <i>Escherichia coli</i>	32,60
Padrão (G) em <i>Staphylococcus aureus</i>	32,00

Figura 5. Leitura dos halos de inibição em *S. aureus*.

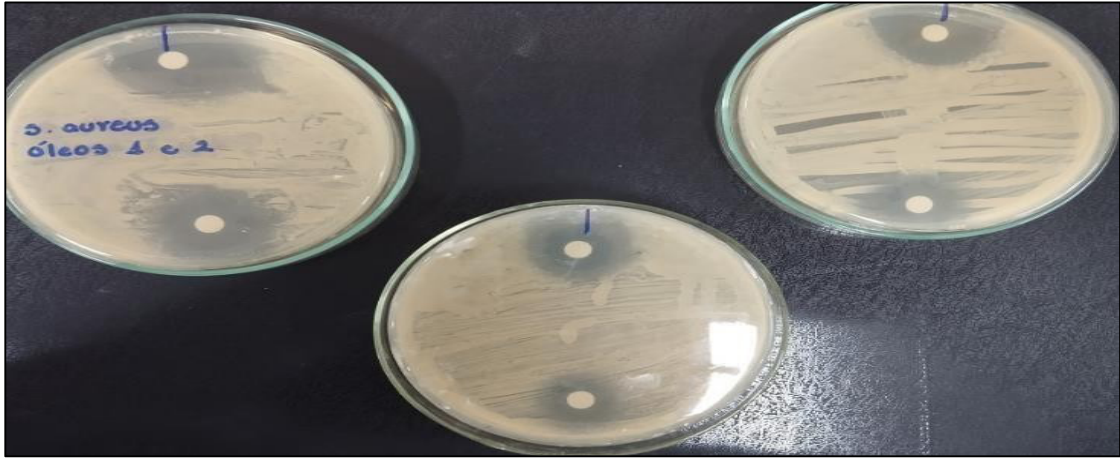
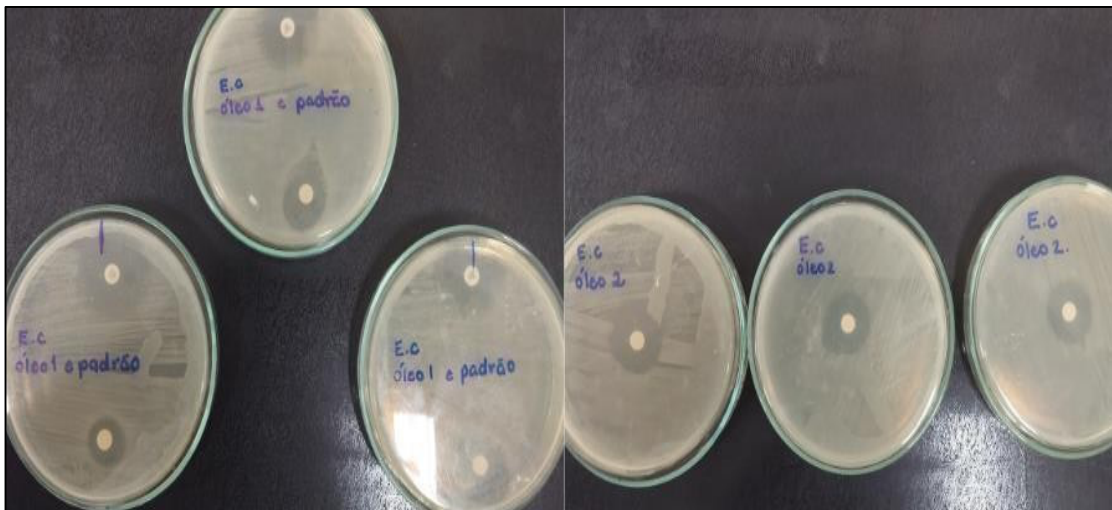


Figura 6. Leitura dos halos de inibição em *E. coli*.



A Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos essenciais foram avaliadas para as concentrações de 100%, 75%, 50%, 25% e 10%.

Os poços contendo o meio de cultura e microrganismo apresentaram coloração rosada, indicando o crescimento microbiano.

Com ambas as amostras de óleo, as colunas referentes às concentrações de 100% e 75% do óleo apresentaram uma coloração alaranjada, o que apontaria para crescimento microbiano. No entanto, para o OE1, as concentrações de 50% (120 OE) e 25% (80 OE) permaneceram azuladas, indicando a ausência de crescimento microbiano.

A segunda placa (utilizada para a análise das concentrações restantes do OE1 e para o OE2) apresentou ainda uma coloração alaranjada nos poços referentes à concentração de 50%, e os poços das concentrações de 25% e 10% mantiveram-se azulados. Não foi encontrado nada na literatura referente à produção de coloração alaranjada em testes de Concentração Inibitória Mínima do óleo de Melaleuca. Os resultados, então, demonstraram ser inconclusivos fazendo-se necessária uma repetição do teste para confirmação de resultados e investigação acerca de uma possível contaminação.

No entanto, com base no Teste de Difusão em Ágar e com os relatos disponíveis na literatura, ainda é possível inferir que o TTO possui uma atividade antimicrobiana satisfatória.

5. CONCLUSÃO

A *Melaleuca alternifolia* é uma planta bastante relevante para a indústria farmacêutica. Sua aplicabilidade na terapêutica se dá principalmente como componente de formulações tópicas, por conta de sua relatada atividade antimicrobiana e anti-inflamatória. Dessa forma, o TTO demonstra ser uma alternativa viável e eficaz para os antimicrobianos sintéticos tradicionais.

Os dois óleos, de ambas as marcas analisadas possuíam aparência límpida, coloração transparente e odor característico, indicando estarem de acordo com os requerimentos da ISO-4730. A porcentagem de Terpinen-4-ol nas duas amostras demonstrou estar acima do máximo tabelado pela Organização Internacional de Normalização, e a porcentagem de α -Terpineno abaixo do mínimo recomendado. Informações sobre os processos extrativos utilizados para a obtenção auxiliariam na compreensão das alterações observadas nos teores dos compostos citados.

Os resultados do teste de Difusão em Ágar e os dados da literatura indicam a capacidade antimicrobiana do TTO, ainda que tenham sido inconclusivos o teste de Concentração Inibitória Mínima realizado. Entretanto mais estudos para elucidar seu mecanismo de ação contra estes e outros agentes patogênicos, são necessários para otimizar sua eficácia clínica e desenvolver novos tipos de formulações.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADORJAN, Barbara; BUCHBAUER, Gerhard. Biological properties of essential oils: an updated review. **Flavour and fragrance journal**, v. 25, n. 6, p. 407-426, 2010.
- AIT-SIDI-BRAHIM, Malika; MARKOUK, Mohammed; LARHSINI, Mustapha. Moroccan medicinal plants as antiinfective and antioxidant agents. In: *New look to phytomedicine*. Academic Press, 2019. p. 91-142.
- ANJOS DA SILVA, Laenir *et al.* Chemical composition and biological activities of essential oils from Myrtaceae species growing in Amazon: an updated review. **Journal of Essential Oil Research**, v. 35, n. 2, p. 103-116, 2023.
- ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 6ª Ed. Brasilia,2019b.
- BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., & IDAOMAR, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, 46(2), 446-475.
- BAKKALI, Fadil *et al.* Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BOROTOVÁ, Petra *et al.* Chemical and biological characterization of *Melaleuca alternifolia* essential oil. **Plants**, v. 11, n. 4, p. 558, 2022.
- CARSON, C. F.; HAMMER, K. A.; RILEY, T.V. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Journal Clinical Microbiology**, v. 19, n.1, p. 50-62, 2006.
- DA VEIGA CORREIA, Vinícius Tadeu *et al.* An integrative review on the main flavonoids found in some species of the Myrtaceae family: Phytochemical characterization, health benefits and development of products. **Plants**, v. 11, n. 20, p. 2796, 2022.
- GRESSLER, Eliana; PIZO, Marco A.; MORELLATO, L. Patrícia C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 29, p. 509-530, 2006.
- HINSHAW, J. V. The Flame Ionization Detector, LCGC North America 2005,23.
- IACOVELLI, Federico *et al.* Deciphering the Broad Antimicrobial Activity of *Melaleuca alternifolia* Tea Tree Oil by Combining Experimental and Computational

Investigations. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 15, p. 12432, 2023.

LOPEZ-ROMERO, Julio Cesar *et al.* Antibacterial effects and mode of action of selected essential oils components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015.

LUEPKE, Katherine H., *et al.* Past, present, and future of antibacterial economics: increasing bacterial resistance, limited antibiotic pipeline, and societal implications. **Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, 2017, 37.1: 71-84.

MAHBOUBI, Mohaddese. Zingiber officinale Rosc. essential oil, a review on its composition and bioactivity. **Clinical Phytoscience**, v. 5, n. 1, p. 1-12, 2019.

NASCIMENTO, Tânia *et al.* Tea tree oil: properties and the therapeutic approach to acne— a review. **Antioxidants**, v. 12, n. 6, p. 1264, 2023.

NAZZARO, Filomena *et al.* Effect of essential oils on pathogenic bacteria. **Pharmaceuticals**, v. 6, n. 12, p. 1451-1474, 2013.

OUSSALAH, M. *et al.* Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food Control**, v. 18, n. 5, p. 414–420, 1 maio 2007.

OUSSALAH, Mounia *et al.* Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. **Food control**, v. 18, n. 5, p. 414-420, 2007.

RAUT, J. S., & KARUPPAYIL, S. M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial crops and products**, 62, 250-264.

RAUT, Jayant Shankar; KARUPPAYIL, Sankunny Mohan. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Industrial crops and products**, v. 62, p. 250-264, 2014.

STEFANELLO, Maria Élide Alves; PASCOAL, Aislan CRF; SALVADOR, Marcos J.

Essential oils from neotropical Myrtaceae: chemical diversity and biological properties.
Chemistry & biodiversity, v. 8, n. 1, p. 73-94, 2011.

VIEIRA, Tatiana R. *et al.* Constituintes químicos de *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae).
Química Nova, v. 27, p. 536-539, 2004.