

AÇÃO BACTERICIDA DO ÓLEO EXTRAÍDO DO CRAVO-DA-ÍNDIA EM CONTATO COM TECIDO DE ALGODÃO

**Caroline Lava; Mariela Bandeira Schmidt; Natieli Jaine Simon*;
Tainara Desideria Wendorff**

Discentes do Curso Técnico em Química (Modalidade Integrado), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina – Câmpus Jaraguá do Sul.

*e-mail: natiifsc@gmail.com

Elder Correa Leopoldino

Docente das Unidades Curriculares de Química Orgânica, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina – Câmpus Jaraguá do Sul.

e-mail: elder.leopodino@ifsc.edu.br

Resumo- *O presente estudo teve como objetivo verificar a ação bactericida do óleo essencial do cravo-da-índia no tecido 100% algodão. Esta é a matéria-prima entre os tecidos fabricados na indústria têxtil que possui maior destaque, pois provê maior liberdade de transpiração sem interferir no funcionamento da pele. As bactérias tendem a ser encontradas em todo local parcialmente úmido do corpo humano, além de terem sua propagação em contato com o tecido e com a pele, a bactéria Staphylococcus aureus é a mais presente na pele humana. Esse microrganismo é o principal responsável pelo odor forte e desagradável da pele na presença de suor, sobretudo nas axilas, que fornece o ambiente adequado para uma grande proliferação de bactérias. Os óleos essenciais possuem propriedades funcionais que demonstram ação antimicrobiana, e o óleo extraído do cravo-da-índia conta com um aroma agradável característico da planta, além de ter um grande rendimento quanto à extração de seu óleo, é um bactericida extremamente eficaz contra vários tipos de bactérias, podendo cessar, por exemplo, o mau odor da pele. Este trabalho trata-se de uma pesquisa descritiva com abordagem qualitativa dos dados, onde as duas técnicas utilizadas tidas como as mais viáveis para a extração do óleo foram comparadas, obtendo-se melhor rendimento através do método de arraste a vapor (21,6%) em relação ao Soxhlet (15,4%). Para comprovar a eficácia do óleo essencial como bactericida foram realizados testes com a bactéria na presença do tecido provido de óleo, utilizando a técnica de repique para a inoculação da S. aureus e consecutivamente o método de disco-difusão, designado para verificar a sensibilidade dos microrganismos perante agentes antimicrobianos. A Staphylococcus aureus se mostrou sensível ao tecido com a presença do óleo essencial chegando à conclusão que o óleo tem propriedade bactericida mesmo depois de aplicado em um tecido 100% algodão, contribuindo assim para o aprimoramento de novos produtos, como, por exemplo, amaciantes e aromatizantes para roupas, que além de prover cheiro agradável às vestes, também visam combater agentes nocivos, promovendo maior qualidade de vida aos seus compradores.*

Palavras-Chave: Cravo-da-índia. Algodão. Bactéria. Staphylococcus aureus.

Abstract- *The present study aimed to verify the bactericidal action of the essential oil of india's clove 100% cotton fabric. This is the raw material between fabrics made in the textile industry that has greater prominence because it provides greater freedom of perspiration without interfering in the functioning of the skin. Bacterium tend to be found in any partially damp the human body site, and its spread in contact with the tissue and skin, the bacterium Staphylococcus aureus is the most present on human skin. This micro-organism is primarily*

responsible for the strong and deterring odor of the skin in the presence of sweat, especially in the armpits, which provides the appropriate environment for a great proliferation of bacterium. Essential oils possess functional properties that demonstrate antimicrobial action, and the oil extracted from india's clove has a pleasant aroma characteristic of the plant, in addition to having a great performance about the extraction of its oil, is a highly effective bactericidal against various types of bacterium, and may, for example, the badodor of skin. This work deals with a descriptive research with qualitative approach, where both techniques used considered as the most viable for oil extraction were compared, obtaining better performance through the method of steam (21.6%) drag compared to Soxhlet (15.4%). To prove the effectiveness of essential oil as a bactericide were carried out tests withthe bacterium in the presence of the fabric fitted with oil, using the technique of Peal for the inoculation of *s. aureus* and consecutively the disk diffusion method, assigned to check the sensitivity of the micro-organisms before antimicrobial agents. The *Staphylococcus aureus* has shown itself sensitive to the fabric with the presenceof essential oil coming to the conclusion that the oil has bactericidal property even after applied on a 100% cotton fabric, thus contributing to the improvement of new products, such as softeners and flavorings for clothes, which in addition to providing pleasant smell to garments, also aim to combat harmful agents by promoting better quality of life to their buyers.

Keywords: India's clove. Cotton. Bacterium. *Staphylococcus aureus*.

1 Introdução

1.1 Bactérias

O corpo humano é habitando por diferentes tipos de bactérias, algumas vivendo de forma transitória em relação as outras (MURRAY *et al.*, 2006, p. 2), neste caso possuem pouca duração em relação aos demais, vivendo de forma passageira. A maioria das bactérias que habitam o ambiente que nos cerca não são patogênicas, contudo, existem algumas espécies que podem causar doenças, causando em casos específicos como baixa imunidade, feridas abertas, entre outras. Tais bactérias a ser citatada estão a Tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*), Hanseníase (*Mycobacterium leprae*), Tétano (*clostridium*) e entre outras (PINHEIRO, Pedro. 2016). O crescimento bacteriano requer uma fonte de energia e matéria-prima para sintetizar os aminoácidos, carboidratos e lipídios para serem utilizados na construção da célula, que consiste em fonte rica de carbono, nitrogênio, água e vários íons, para a construção de proteínas, das estruturas e das membranas que perfazem a estrutura e o maquinário bioquímico da mesma. (MURRAY *et al.*, 2006, p. 25).

Dessa forma, visto a diversidade de bactérias existentes, algumas ganham destaque, entre elas está a *S. aureus*, isto devido pelo fácil acesso de ser encontrada e também pelos estudos realizados em relação a mesma. Assim, fazendo com que a mesma seja importante para realizações de pesquisas.

1.2 A bactéria *Staphylococcus aureus*

Dentre os tipos de bactéria mais comuns está a *S. aureus*, uma bactéria esférica do grupo dos cocos gram-positivos, que pode ser facilmente encontrada no ambiente externo de circulação do ser humano, além de estar presente em diversas partes do corpo, como fossas nasais, garganta, intestinos e pele (SANTOS *et al.*, 2007).

Mesmo não patogênica¹, pode facilmente se tornar prejudicial à saúde caso penetre na corrente sanguínea através de sangue exposto ou por via bucal, desencadeando assim diversos tipos de doenças, que vão desde uma simples infecção, como espinhas, furúnculos e celulites, até infecções mais graves, como pneumonia, meningite, endocardite, síndrome do choque tóxico, septicemia e outras (SANTOS *et al.*, 2007, PEREIRA *et al.*, 2008). Além de problemas de saúde, a bactéria *S. aureus*, localizada principalmente na pele, também é uma das grandes responsáveis pelo mau odor do corpo (Figura 1).

A *S. aureus* contém na estrutura de sua parede celular, polissacarídeos e proteínas antigênicas, bem como outras moléculas importantes, como o ácido teicóico, o glicanopeptídeo, a proteína A, além da presença de cápsula e de adesinas, e todas podem induzir uma resposta imunológica no hospedeiro (SANTOS *et al.*, 2007).

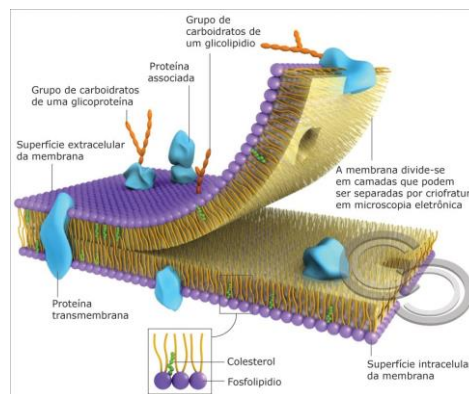


Figura 1. Estrutura da Membrana Plasmática.
Fonte: Biologia- Obtenção de Matéria.

Visto a fragilidade de algumas bactérias em relação aos bactericidas, as mesmas são aplicadas para testes. Conforme DOMINGUES (2005), bactericidas são todas as substâncias químicas ou processos físicos capazes de destruir bactérias na sua forma vegetativa. Assim se tornando foco de pesquisa para a ação do bactericida a bactéria *S. aureus*, sendo esta uma não superbactéria².

¹ Patogênicas: É tudo aquilo que possa causar alguma doença.

² Superbactérias: É o nome dado ao grupo de bactérias que consegue resistir ao tratamento com o uso de uma grande quantidade de antibióticos.

1.3 Aplicações têxteis nas indústrias do Norte de Santa Catarina

Com base no desenvolvimento do Vale do Itapocu, a região adquiriu reconhecimento favorável para instalação de manufaturas reconhecidas. Diante da concorrência do mercado atual, as indústrias tendem a aperfeiçoar sua produção até que se tenha produtos com maior qualidade e conforto, isto faz com que se tenha um avanço considerável para produção de estudos têxteis antibacterianos (SOUZA, 2012).

Artigos têxteis antibacterianos possuem controle sob a proliferação das bactérias em contato com a pele, com o tecido e com o ambiente. Segundo Clemo (2005), a proliferação das bactérias é o fator que causa os odores da transpiração, ocorrendo a absorção da umidade da pele pelas fibras do tecido e proporcionando um ambiente úmido e adequado. Os tratamentos têxteis que visam o combate aos agentes nocivos à saúde tendem a reduzir essa proliferação, ou seja, inibir os odores causados pela proliferação que ocorre enquanto usamos uma roupa no dia a dia (CLEMO, 2005).

As etapas que ocorrem desde a transformação da matéria prima em bens de consumo são processos chamados de beneficiamentos têxteis. O beneficiamento tem por finalidade permitir que as fibras permaneçam livres de impurezas e colorações indesejáveis, ocorrendo em três etapas: o beneficiamento primário e secundário, que são os tratamentos do tecido por processos oxidativos visando a purificação e branqueamento, respectivamente, e o terciário, foco deste trabalho, que é o conjunto de processos que modificam as características físico-químicas do tecido a fim de torná-lo próprio ou mais adequado, como por exemplo, a inserção do óleo essencial do cravo-da-índia (SOUZA, 2012).

Artigos têxteis antibacterianos são produtos que podem vir a obter maiores características com intuito de proporcionar maior conforto e proteção contra proliferação de bactérias. Para realização das modificações requeridas, as indústrias optam por fibras químicas, porque tais fornecem uma variedade maior de modificação. Os procedimentos são realizados, por exemplo, através de microencapsulação, de maneira eletrônica e nano tecnológica (SÁNCHEZ, 2006).

Dentro da classificação dos microencapsulados estão presentes produtos que possuem características antimicrobianas, têxteis cosméticos e fotocromáticos (SÁNCHEZ, 2006). Um dos tratamentos fornecidos por indústrias têxteis é conhecido como Trevira GmbH com as fibras bioativas, sob duas formas: a Trevira Perform, para aqueles artigos bioativos de baixo *pilling*; e Trevira CS,

para os artigos dificilmente inflamáveis. Essas fibras são fabricadas com base na presença de íons metálicos, e no caso da Trevira, são empregados íons de prata como componente ativo para obter o efeito antimicrobiano. Tratamentos especializados possuem alto custo, portanto, têm-se a confirmação de que algumas plantas possuem características parecidas com as utilizadas em tratamentos antimicrobianos, tornando viável adaptar tecidos com a inserção do óleo essencial, com a finalidade de adquirir funcionalidades antibacterianas (SÁNCHEZ, 2006).

Tecidos tratados com bactericidas possuem a característica de inibir os micro-organismos em contato com a sua textura. Além disso, produtos naturais, como o óleo essencial, são capazes de diminuir a proliferação de bactérias, mostrando-se também menos prejudiciais à saúde, além de possuírem menor custo se comparados a outros métodos. (SÁNCHEZ, 2006).

1.4 Óleos essenciais e atividade antibacteriana

Óleos essenciais são líquidos odoríferos voláteis encontrados apenas em 10% do reino vegetal e estão contidos geralmente nas cavidades secretoras ou nos dutos de resina das plantas. O teor de óleo essencial total das plantas é geralmente muito baixo, e raramente excede 1%, mas em alguns casos, por exemplo, cravo-da-índia e noz-moscada (*Myristica fragrans*), o percentual atinge mais de 10%. Os óleos essenciais são hidrofóbicos, solúveis em álcool, solventes não polares ou fracamente polares e levemente solúveis em água. A maioria é incolor ou amarelo pálido com densidade inferior à da água (AFFONSO *et al.*, 2012).

O 4-alil-2-metoxifenol (Figura 1) popularmente chamado de eugenol é um metabólito fabricado por várias plantas da classe fenilpropanóides, notório por sua presença profusa no óleo essencial do cravo-da-índia, proporcionando a planta seu cheiro característico. O eugenol é um líquido fenólico fracamente ionizável conhecido por seu poder antioxidante, bactericida, anestésico e anti-inflamatório. (AFFONSO *et al.*, 2012). Testes apontam que o óleo essencial do cravo-da-índia, com quantidades que variam de 52% a 88% de eugenol entre outros compostos, possui alta atividade inibitória contra cepas da *S. aureus*, resistentes à penicilina G e outros medicamentos antibacterianos (PÉREZ *et al.*, 1994; RAINA *et al.*, 2001).

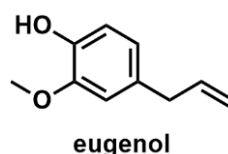


Figura 2. Estrutura molecular do 4-alil-2-metoxifenol (eugenol).
Fonte: Elaborada pelo autor.

Para DEVI *et al.*, (2010, apud AFFONSO *et al.*, 2012), a explicação da eficiência do eugenol no combate às bactérias se deve a sua fácil penetrabilidade na membrana plasmática da bactéria, causando seu rompimento e aumentando o nível de sua permeabilidade seletiva não específica, desta forma gerando um extravasamento do conteúdo celular, provocando a destruição da bactéria. Substâncias com a capacidade de destruir a membrana celular da bactéria são de extrema importância para fins medicinais, pois tem menor probabilidade de selecionar bactérias resistentes.

2 Materiais e Métodos

2.1 Materiais

Autoclave vertical CS (Prismatec autoclaves); Balão volumétrico; Cravo-da-índia; Cabeça de Claisen; Condensador; Detergente; Evaporador rotativo; Éter etílico PA (Dinâmico); Extrator; Frasco âmbar; Funil de separação; Funil de adição; Hexano PA (Dinâmico); Manta de aquecimento; Mangueira; Materiais de escritório; Micropipetador; Papel filtro; Pérolas de vidro; Pinça; Sulfato de Magnésio PA (Dinâmico); Termômetro.

2.1.1 Métodos de extração do óleo essencial

A extração do óleo essencial do cravo-da-índia foi feita a partir de dois métodos: extração por solventes (Soxhlet) e arraste a vapor, ambos realizados no laboratório de química do IFSC – Câmpus Jaraguá do Sul. Ambos os métodos foram testados com o intuito de recorrer àquele que fornecesse melhores resultados em um curto período de tempo. Os óleos essenciais extraídos foram mantidos vedados em frascos âmbar até sua utilização nas etapas posteriores.

2.1.2 Extração por arraste a vapor

Para realizar a extração do óleo foram adicionados, em um balão de 500 mL, 350 mL de água destilada, aproximadamente 26,43 g de cravo-da-índia – a vidraria não comportava a quantidade estimada de 30 g – e pérolas de vidro. Em seguida o balão foi conectado a uma cabeça de Claisen e posto sobre uma manta aquecedora. Em uma das saídas da cabeça de Claisen foi acrescentado um funil de adição para repor água, em outra saída um termômetro, para controlar a temperatura da vidraria, na última saída um condensador. Do outro lado do condensador havia um balão para a coleta da emulsão água/óleo essencial.

Seguindo o método de SILVA *et al.*, 2011, na purificação utilizou-se 30 mL de éter etílico PA (Dinâmico) em lavagens de 3x10 mL realizadas em um funil de separação, onde foram separadas as fases orgânicas e descartadas as

fases aquosas. Após a separação foi adicionado Sulfato de Magnésio PA (Dinâmico) à mistura com intuito de retirar a água presente no meio, e posteriormente a mistura foi filtrada. Ao final o éter foi removido por evaporação rotativa e o óleo essencial obtido foi armazenado em frasco ambar devidamente vedado.

2.1.3 Extração por Soxhlet

De acordo com a metodologia descrita por Ribeiro *et al.*, foram pesados aproximadamente 26,18 g da amostra de cravo-da-índia. Após isso essa massa foi transferida para três cartuchos de extração, contendo aproximadamente 9 g cada um, e três sistemas de Soxhlet foram montados. Após a adição de 200 mL de hexano PA (Dinâmico) em cada balão, este ficou acomodado dentro de uma manta aquecedora, iniciando o processo de extração a uma velocidade de 20 ciclos/hora (1 ciclo/3 minutos) durante aproximadamente 4 horas e 15 minutos.

Após todo o processo de extração a mistura contendo hexano e óleo essencial foi colocada em um evaporador rotativo, onde o hexano foi recuperado, o cartucho com o material sólido foi descartado em lixo contaminados e o óleo foi armazenado em frasco ambar devidamente vedado.

2.1.4 Beneficiamento terciário

Os métodos de limpeza consistiram na lavagem do tecido a partir de um detergente (Fontana) com pH neutro juntamente com água destilada. Posteriormente houve o recorte do tecido 100% algodão em pedaços com formato de disco com aproximadamente 0,7 cm, assumindo o tamanho similar com o utilizado para testes de antibiograma – teste laboratorial realizado para detectar com mais precisão a bactéria a ser eliminada – sendo 0,5 cm. Após o recorte do tecido para utilização da prática, foi acondicionado no equipamento autoclave vertical CS (Prismatec autoclaves) por aproximadamente 35 min nas condições de temperatura variando entre 120 a 127 °C e pressão 1 a 1,5 atm, com o intuito de esterilizar o material, considerando os organismos contidos no tecido seriam inibidos. (Representação do tecido antes da autoclave Figura 3).



Figura 3. Recortes de tecido antes da esterilização.

As pinças utilizadas para nivelar o tecido antes da adição do óleo e placas de Petri que continham o tecido recortado, foram submetidas juntamente a autoclave durante 35 minutos. Em seguida, houve um intervalo de 15 minutos para secagem do tecido na estufa, pois devido a água utilizada para o processo de esterilização este se encontrava molhado. O manuseio dos equipamentos após serem esterilizados, foi realizado com luvas para que fosse evitada a contaminação dos materiais.

Ao todo foram 18 recortes de tecido 100% algodão, 9 destes para análises com óleo essencial (Amostra 1) e outros 9 para comparação do tecido sem a presença do óleo essencial (Amostra 2). Os tecidos esterilizados foram submetidos a capela de fluxo laminar até a inserção -ou não- do óleo essencial.

O óleo extraído do cravo-da-índia foi inserido nos recortes de tecido 100% algodão utilizando um micropipetador. Foram utilizados aproximadamente 0,600 mL de óleo para os 9 recortes do tecido, em média 0,067 mL de óleo para cada pedaço, ou seja, o processo de inserção do óleo essencial do cravo-da-índia ocorreu em duas vertentes, onde dos 18 recortes de tecidos, 9 continham óleo essencial (Amostra 1), e 9 não continham nada além do tecido (Amostra 2).

2.2 *Staphylococcus aureus*

Para a verificação da propriedade antibacteriana do óleo essencial foram necessárias duas etapas executadas respectivamente: O repique e o método disco-difusão.

A primeira etapa serve para inocular a bactéria, pois, a vida útil da *S. aureus* é curta, e para mante-la viva por mais tempo é necessário transferi-la para outro meio de cultura (NCCLS, 2003).

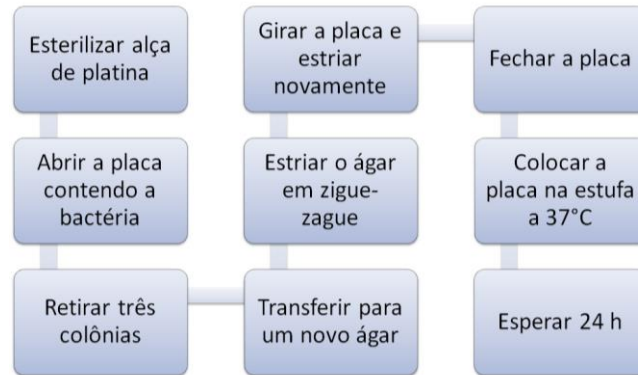
A segunda etapa serve para verificar o crescimento efetivo da bactéria no antibiograma, que consiste no conjunto de uma placa com ágar (geralmente *Mueller-Hinton*) contendo um tipo de bactéria e determinados tipos de bactericidas em formato de disco.

2.2.1 Materiais

Água para injeção estéril; Alça de inoculação; Álcool 70%; Bico de Bunsen; Câmara de Fluxo Laminar BIO SEG 06 (Grupo VECO); Cepa de *Staphylococcus aureus*; Estufa bacteriológica SL - 101 (SOLAB); Frascos de vidro esterilizados; Luvas; Mascara de proteção; Óleo essencial; Placas com ágar *Muller-Hinton*; Pinça estéril; Placas com ágar sangue de carneiro; Régua para medição de halo inibitório; Swab estéril; Tecido 100% algodão em formato de disco medindo 1 centímetro.

2.2.2 Repique da bactéria

O experimento foi realizado dentro da câmara de fluxo laminar BIO SEG 06 (Grupo VECO), onde retirou-se três colônias da *S. aureus* na placa de ágar sangue de carneiro, e foram posteriormente transferidas para uma nova placa com ágar sangue de carneiro, realizando assim sua inoculação. O fluxograma a seguir mostra todas as etapas do repique:



Fluxograma 1. Repique da bactéria.

O estriamento é feito para a obtenção de colônias isoladas. O ágar primeiramente foi estriado até atingir o meio da placa, sendo repetido mais duas vezes em ângulos diferentes sem sobrepor as áreas estriadas anteriormente como mostra a figura:



Figura 4. Estriamento feito sobre o ágar sangue.

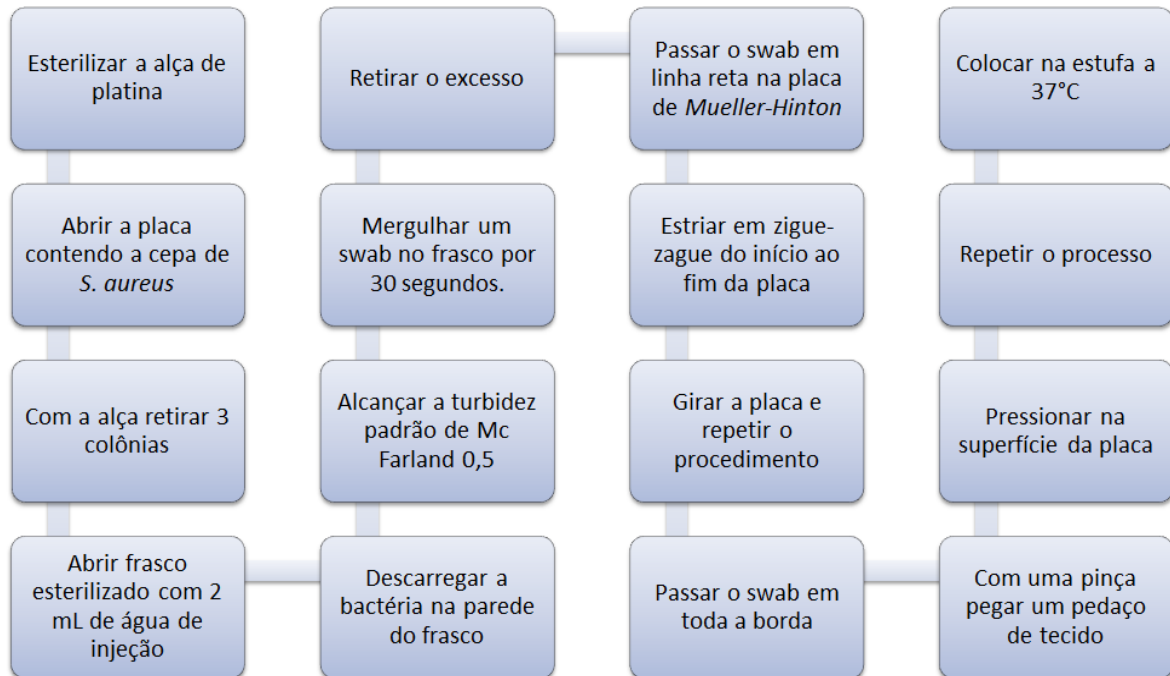
Fonte: <http://photos.demandstudios.com/getty/article/114/6/92814121.jpg>

Os materiais foram esterilizados com auxílio do bico de Bunsen e a desinfecção da bancada foi feita com álcool 70%. A antiga placa com as colônias desenvolvidas foi fechada e transferida para dentro de um isopor na geladeira (NCCLS, 2003).

2.2.2 Método de disco-difusão

Segundo a ANVISA é um dos métodos de sensibilidade mais simples e confiáveis, servindo como técnica rotineira de laboratórios para avaliação da sensibilidade aos antimicrobianos.

O procedimento executado dentro do fluxo laminar resume-se na transferência de três colônias de *S. aureus* situadas no meio ágar sangue para o meio ágar *Mueller-Hinton* (ágar padrão utilizado no método disco-difusão), onde foi colocado posteriormente o tecido com a presença e ausência do óleo



essencial como mostra o fluxograma a seguir:

Fluxograma 2. Método de disco-difusão.

Foram utilizados 9 pedaços de tecido esterilizados, sendo separados outros 9 pedaços esterilizados sem o óleo para servir como controle, totalizando 18 pedaços de tecido.

Um frasco de vidro esterilizado contendo 2 mL de água estéril para injeção (água livre de solutos e microorganismos) serviu como modelo de comparação a olho nu para chegar a suspensão de turbidez Mc Farland 0,5, tida como padrão para a prática de disco-difusão. A escala expressa aproximadamente $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônias (UFC)/mL (NCCLS, 2003).

O Swab (espécie de cotonete) foi passado em linha reta sobre uma das placas de ágar *Mueller-Hinton*, em seguida de forma estriada e novamente em

um ângulo de 90 graus em relação ao ângulo anterior. Por último o Swab foi passado sobre toda a borda da placa e assim descartado.

Três pedaços de tecido com o óleo foram adicionados a cada placa de ágar *Mueller-Hinton*, respeitando uma certa distância entre os mesmos para não causar sobreposição de halo. O processo foi repetido mais duas vezes com o tecido na presença de óleo e três vezes sem a presença do óleo. As placas foram colocadas na estufa bacteriológica SL - 101 (SOLAB) a aproximadamente 37°C em um período de 24 h para então verificar se houve halo inibitório ou não (NCCLS, 2003).

3 Resultados e Discussão

Conforme a proposta de verificar qual método de extração do óleo essencial do cravo-da-índia pudesse obter melhor resultado foram realizadas duas práticas de extração envolvendo solventes, Soxhlet e arraste a vapor.

De acordo com o método de extração por Soxhlet, cada um dos três sistemas continha cerca de 9 g por cartucho, devido ao pequeno tamanho da vidraria, tornando inviável a utilização de 30 g em um único sistema, portanto, foram utilizados no total cerca de 26,18 g de cravo-da-índia nos três sistemas.

A quantidade de óleo extraída no Soxhlet em um período de tempo de 4 h e 15 min (1 ciclo/3 minutos) foi aproximadamente 4,04 g, enquanto no arraste a vapor, o tempo variou entre 5 e 6 h, resultando em uma quantidade de óleo 5,71 g.

A quantia de cravo-da-índia utilizado para a extração a partir dos métodos Soxhlet e arraste a vapor e a massa de óleo extraído obtidos são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultados obtidos pelo método de extração do Soxhlet e arraste a vapor para a obtenção do óleo do essencial do cravo-da-índia.

Método utilizado	Peso total do cravo pesado	Óleo extraído	Porcentagem em massa
Soxhlet	26,18 g	4,04 g	15,43%
Arraste a vapor	26,43 g	5,71 g	21,60%

Com base nos resultados supracitados o método efetuado por arraste a vapor obteve o maior rendimento. Mesmo que a extração realizada por Soxhlet tenha ocorrido em menor tempo, os extratos obtidos tiveram muita perda, assim

como contaminação com impurezas e diferença nas características físico-químicas como viscosidade, volatilidade e concentração.

O óleo extraído a partir do método de arraste a vapor continha características que evidenciavam pureza na sua composição, como a coloração mais translúcida e fluidez, contendo o dobro da quantidade de óleo extraído do Soxhlet, sendo esta quantidade de óleo extraído é a soma de 3 extrações. O óleo extraído no arraste a vapor foi escolhido para a utilização no processo com o tecido e as bactérias.

3.1 Cultivo da *Staphylococcus aureus*

Após o método de repique a placa foi colocada na estufa em temperatura variando entre 36,7°C a 37,5°C, é o mesmo que a temperatura média corporal. A estufa é um ambiente apropriado para o desenvolvimento do microrganismo, pois o mesmo foi incubado em ambiente favorável à multiplicação, o que favoreceu a reativação da bactéria *S. aureus*.

A primeira tentativa de reativação da bactéria não foi bem-sucedida. Um dos possíveis erros foi a temperatura estufa, pois a mesma estava desregulada variando entre 25,2°C e 59,9°C. Sabe-se que o ambiente ideal para o crescimento da bactéria encontra-se em aproximadamente 36,7°C a 37,5°C. A esterilização da alça de platina pode ser considerado outro possível erro, por superaquecimento da alça e em contato com as bactérias provocou a morte das mesmas.

Na segunda tentativa, após a reativação da bactéria, a *S. aureus* se desenvolveu e formaram colônias conforme a Figura 5. O desenvolvimento da bactéria foi possível pois o meio era propício e o procedimento seguiu como o estabelecido. Na placa estão contidas as bactérias sobre o meio ágar. O ágar sangue presente na placa é de cor avermelhada e a presença da mesma é necessária pois ela fornece as condições necessárias para que a bactéria *S. aureus* se prolifere.

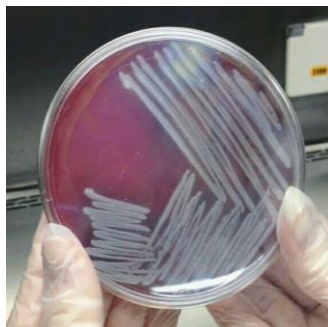


Figura 5. Bactéria (*S. Aureus*) sobre o ágar sangue após a reativação.

O processo de desenvolvimento e cultivo das bactérias durou cerca de 24 h, como descrito na metodologia. A placa foi condicionada a estufa a uma

temperatura que varia de 36,7°C a 37,5°C. Ao ser retirada a mesma foi direcionada ao fluxo laminar para que assim pudesse ser feito o método disco-difusão.

A etapa seguinte consistia em aplicar o óleo no tecido juntamente com as bactérias na placa possuindo ágar *Mueller-Hinton*. Foram separadas 6 placas, três contendo o tecido com o óleo e três sem a aplicação do óleo.

A Tabela 2 se refere à figura 5, indicando a amplitude do halo formado em torno do tecido com o óleo.

Tabela 2 - Halo inibitório causado pelo tecido contendo óleo essencial.

Halo Inibitório	Placa 1	Placa 2	Placa 3
1° Halo	23 mm	23 mm	23 mm
2° Halo	22 mm	21 mm	22 mm
3° Halo	20 mm	21 mm	20 mm

Posteriormente as placas permaneceram em uma estufa biológica com a temperatura de aproximadamente 37 °C em um período de 24 h. Após o ágar sangue contendo as colônias de *S. aureus* foram armazenadas sob refrigeração (5 a 8 °C), tal fator busca a redução do metabolismo dos microrganismos e o aumento entre os intervalos de repiques das culturas (SOLA *et al.*, 2012).

Após o tempo de estufa, as placas foram retiradas e analisadas. As três placas contendo os três pedaços de tecido sem a presença do óleo não apresentaram halo inibitório (Figura 6). Os halos inibitórios do tecido com o óleo foram medidos, obtendo-se os resultados a seguir:

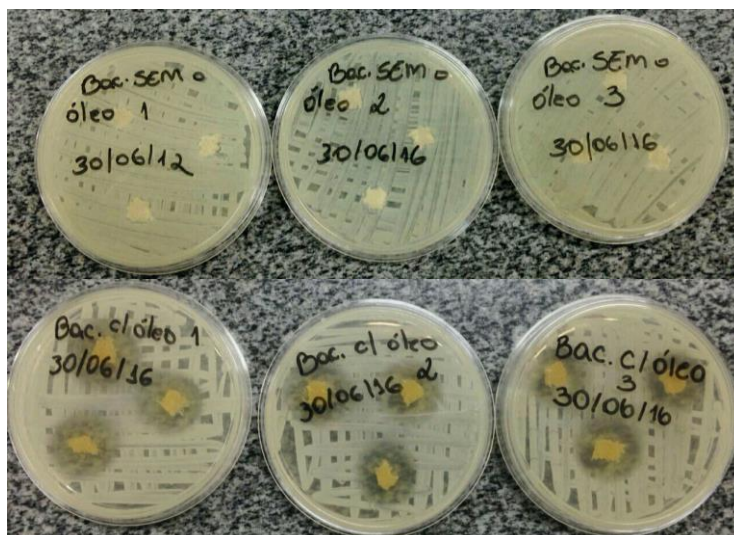


Figura 6. Placas com os tecidos sem e com a presença do óleo essencial.

O óleo essencial do cravo-da-índia mostrou-se um eficiente bactericida diante dos halos inibitórios medidos no antibiograma, sendo a *S. aureus* sensível ao óleo essencial.

Dentre os muitos meios disponíveis, o subcomitê (ANVISA) considera o ágar *Mueller-Hinton* o melhor para testes rotineiros de sensibilidade contra bactérias não fastidiosas³, sendo tais razões a demonstração de reprodutibilidade aceitável entre os diferentes lotes nos testes de sensibilidade. O mesmo contém baixo teor de inibidores de sulfonamida, trimetoprim e tetraciclina, permite crescimento satisfatório dos patógenos não fastidiosos e existe um grande acervo de dados e experiência relativos a testes de sensibilidade realizados com esse meio (JORGENSEN *et al.*, 2005).

4 Considerações finais

Essa pesquisa teve como principal objetivo verificar a ação bactericida do óleo essencial do cravo-da-índia no tecido 100% algodão, obtendo resultados positivos e satisfatórios.

Devido à dificuldade em reunir as folhas do cravo-da-índia que dispõe de uma produção comercial no Brasil centrada na região nordeste optou-se por utilizar na extração a gema floral da planta, que teve um rendimento em porcentagem considerável conforme a literatura. Apenas o óleo essencial extraído pelo arraste a vapor foi empregado no método de disco-difusão, existindo assim um excedente de óleo essencial, sendo armazenado no laboratório para futuras pesquisas.

³ Fastidioso: Demonstram exigências de nutrientes específicos, como vitaminas e outras substâncias estimulantes.

Houve dificuldade quanto ao fornecimento da bactéria *S. aureus* e seus meios de cultura, ademais, ao final dos testes as bactérias se proliferaram e formaram o halo inibitório, concluindo que a bactéria é sensível ao óleo proveniente do cravo-da-índia e reforçando sua propriedade bactericida.

O estudo desse trabalho pode ser utilizado como base para novas pesquisas relacionadas à fabricação e ao aprimoramento de produtos com ação bactericida, como, por exemplo, roupas e amaciantes com intuito prevenir possíveis enfermidades e promover o bem-estar dos compradores.

5 Agradecimentos

Ao professor Elder Correa Leopoldino pela orientação oferecida durante a realização dos estudos, aos professores Daniel Spudeit, Giovani Pakuszewski e Luciana Pinheiro, aos estagiários do laboratório do Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC) Felipe Zanghelini, Karin Sevegnani, Mariana Furtado e Thiago Schuler, e em especial a Cristiane Soccol Pasold, do Laboratório Pasold, que contribuíram para a realização desta pesquisa.

6 Referências

AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B. C. A.; FRANÇA. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo-da-Índia. Instituto Militar de Engenharia, 21 Seção de Engenharia Química, Divisão de Ensino e Pesquisa, Praça General Tibúrcio, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Rev. Virtual Quim. Volume 4, Número 2, p. 146-161. 2012.

ATOKARAN, M. Natural food flavors and colorants. USA: Blackwell Publishing Ltd. and Institute of Food Technologists, p. 145, 2011.

BERALDO, C.; DANELUZZI, S. N.; SCANAVACCA, J.; DOYAMA, J. T.; JUNIOR, A. F.; MORITZ, C. M. F. Eficiência de óleos essenciais de canela e cravo-da-índia como sanitizantes na indústria de alimentos. Pesq. Agropec. Trop., Goiânia, v. 43, n. 4, 436-440, out./dez. 2013.

CLEMO, Barrie. Ultra-Fresh Silpure: A nova geração antimicrobiana baseada na nanotecnologia da prata. Revista Química têxtil, n. 80, set. 2005, p. 14-18.

COIMBRA, Melissa. A cultura do trabalho em Jaraguá do sul: um trabalho sobre as trabalhadoras da indústria têxtil-vestuária (2013). Disponível em: <<http://necat.ufsc.br/files/2011/10/Melissa-Gabriela-Lopes-Barcellos-Coimbra.pdf>>. Acesso em: 14 de dez. de 2015.

DOMINGUES, Paulo Francisco. HIGIENE ZOOTÉCNICA. Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, 2005. Disponível em: <<http://www.fmvz.unesp.br/paulodomingues/graduacao/aula5-texto.pdf>>. Acesso em: 07 de julho de 2016.

DORMAN, H.; FIGUEIREDO, A.; BARROSO, J.; DEANS, S. In vitro antioxidant activity of a number of plant essential oils and phytoconstituents. Journal of Essential Oil Research, v. 12, p. 241-248, 2000.

ESCOBAR, R. G. Eugenol: propiedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso. Rev. Cub. Estomatol., v.39, n.2, p.139-156, 2002.

- FERREIRA et al, Fibras celulósicas (2003). Disponível em: <<http://www.almanaquedocampo.com.br/imagens/files/fibras-celulosicas%20juta.pdf>>. Acesso em: 15 de dez. de 2015.
- GUHA,S.N.; PRIYADARSINI,K.I. Kinetic and redox characteristics of phenoxyl radicals of eugenol and isoeugenol: A pulse radiolysis study. Int. J. Chem. Kinetics v. 32 (1), p. 17-23, 1999.
- HELENA OLIVEIRA, Principais matérias primas utilizadas nas indústrias têxteis. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/bnset/mprev.pdf>. Acesso em: 13 de dez. de 2015.
- LANNETTE, EH; Balows, A.; Hausler, WJ; Shadomy, HJ – Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1985.
- LAROQUE, D. A. Óleo De Cravo-da-índia (*Eugenia Caryophyllata*) Como Substrato Para A Síntese De Acetato De Eugenila Via Catálise Heterogênea Em Sistema Livre De Solvente. Universidade Federal de Santa Catarina. Engenharia de Alimentos. Florianópolis, SC, 2014.
- LIS-BALCHIN, E.; DEANS, S.; EAGLESHAM, E. Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. Flavour and Fragrance Journal, v. 18, p. 98-104, 1998.
- MARTINS DE SOUZA, Magali. Estratégias competitivas no setor têxtil de Jaraguá do sul (2012). Disponível em:< <http://www.uniedu.sed.sc.gov.br/wp-22content/uploads/2014/01/Magali-Garcia-Martins-de-Souza.pdf>>. Acesso em: 14 de dez. de 2015.
- MEDEIROS, Mitiko Kodaira. Beneficiamento Textil. Disponível em: <http://www2.anhembri.br/html/ead01/tecnol_textil/aula6.pdf>. Acesso em: 19 de fev. de 2016.
- MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; PFALLER, M. A. Microbiologia Médica. 5 ed. Rio de Janeiro. pag 2-25, 2006.
- NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory Standards. Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco-difusão: Norma Aprovada – Oitava Edição. M2-A8, Vol. 23 Nº 1. ANVISA, Janeiro de 2003.
- NEVES, I. A.; NEVES, R. C. S.; MORAES M. M.; GOMES C. A.; BOTELHO P. S.; CAMARA, C. A. G. Composição Química E Atividade Acaricida Do Óleo Essencial Do Cravoda-Índia (*Caryophyllus Aromaticus L.*) Recife, PE, Brasil. 2009.
- PAKUSZEWSKI, Giovani. Síntese e estudo da impregnação e eficiência das nanopartículas de prata como agentes bactericidas em malhas – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.
- PEREIRA, A. A. *et al.* Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Ciência e Agrotecnologia, v. 32, n. 3, p.887-93, 2008.
- PINHEIRO, Pedro. DOENÇAS CAUSADAS POR BACTÉRIAS. Disponível em: <<http://www.mdsauade.com/2011/05/doencas-bacterias.html>>. Acesso em: 07 de julho de 2016.
- RAINHA, V.K.; SRIVASTAVA, S.K.; AGGARWAL, K.K.; SYAMASUNDAR, K.V.; KUMAR, S. Essential oil composition of *Syzygium aromaticum* leaf from Little Andaman, India. Flavour and Fragrance Journal, v. 16, nº. 5, p. 334-336, 2001.
- RIBEIRO, A., REGINA, M., CAROLINE, M., BARBOSA, N., MARIA, N., CÁSSIA, R., OLIVEIRA, V. Extração do óleo de cravo. Instituto Poitécnico – UNA.

Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAAa14AL/oleos-essenciais#>>. Acesso em: 22 de fev. de 2016.

ROITMAN, V. Curso de formação de operadores de refinaria: operações unitárias. PETROBRAS. UnicenP, Curitiba, p. 50, 2002.

ROMERO, Luiz. et al. Fibras artificiais e sintéticas. Pg. 03. Junho de 1995. Disponível em: <http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conhecimento/relato/fibras.pdf>. Acesso em: 13 de jan. de 2016.

SABAHAT, S.; PERWEEN T. In vitro antibacterial activity of clove against gram negative bacteria. Pakistan Journal of Botany, v. 40, n°. 5, p. 2157-2160, 2008.

SÁNCHEZ, José. Química têxtil. No 82. Pg. 58. Março de 2006. Textéis inteligentes. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/posmoda/files/2008/07/T%C3%AAxteis-inteligentes.pdf>>. Acesso em: 22 de jan. de 2015.

SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. .*Staphylococcus Aureus*: visitando uma cepa de importância hospitalar. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v43n6/v43n6a05.pdf>>. Acesso em: 27 de junho de 2016.

SECRETÁRIA DE ESTADO DO DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO SUSTENTÁVEL. Santa Catarina em Números: Jaraguá do Sul/Sebrae/SC. Florianópolis: Sebrae/SC, 135p. Serviço de Apoio às Micro e Pequenas Empresas de Santa Catarina. 2013.

SHAN, B.; CAI, Y.; SUN, M.; CORKE, H. antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 53, n°. 20, p. 7749-7759, 2005.

SILVA, T. C., OLIVEIRA, J., R., SOUZA, S. J. O. Extração do eugenol a partir do cravo-da-índia e produção de sabonetes aromatizados – Revista Crase.edu – A revista do e-Tec Brasil – IFG / Campus Inhumas - Vol. 01 N.01. 2011.

SOLA *et al.*, MANUTENÇÃO DE MICRORGANISMOS: CONSERVAÇÃO E VIABILIDADE. Disponível em: >
<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2012a/biologicas/manutencao.pdf> <. Acesso em: Acesso em: 27 de junho de 2016.

SOUZA, José T de. Tecnologia do beneficiamento têxtil. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAgIQwAA/tecnologia-beneficiamento-textil>>. Acesso em: 19 de fev. de 2016.

TANGERINO, L. M. B. Estudo Das Propriedades Antimicrobianas De Copolímeros Derivados Do Eugenol. Universidade Federal de Itajubá. Instituto de Ciências Exatas. Departamento de Física e Química. Pós-graduação em Materiais para Engenharia. 2006.