

## Efeito fungitóxico *in vitro* do óleo resina e do óleo essencial de copaíba (*Copaifera multijuga* Hayne)

DEUS, R.J.A.<sup>1</sup>; CARVALHO, A.S.C.<sup>1</sup>; BANNA, D.A.D.S.<sup>1</sup>; ARRUDA, M.S.P.<sup>2</sup>; ALVES, C.N.<sup>1,2</sup>; SANTOS, A.S.<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> LabSisBio, Programa de Pós-graduação em Química, ICEN, Universidade Federal do Pará. Av. Augusto Correa, s/n - Guamá, Belém, Pará, Brasil. CEP:66075-110 Fone + 55 91 3201 7999. \* alberdan@ufpa.br. FAX: +55-91-31831635 <sup>2</sup> Laboratório de Química - Pesquisa, Programa de Pós-graduação em Química, CCEN, Universidade Federal do Pará. Av. Augusto Correa, s/n-Guamá. Belém, Pará, Brasil.

**RESUMO:** Óleo de *Copaifera multijuga* Hayne, *in natura* e as frações foram avaliadas quanto às atividades fungitóxicas *in vitro*, frente a cinco espécies de fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* e três espécies de leveduras do gênero *Candida*. Concentrações de óleo resina e de óleo essencial na faixa de 0,08 mg mL<sup>-1</sup> a 1,6 mg mL<sup>-1</sup> foram usadas para as análises qualitativa e quantitativas. As amostras foram dispostas sobre discos de papel de 5 mm de diâmetro e distribuídos sobre o meio Saboraud em placas de Petri, inoculadas com esporos dos microorganismos e incubadas a 28°C durante 10 dias. Utilizou-se solução com 1,6 mg mL<sup>-1</sup> de nitrato de miconazol como controle positivo. Os resultados qualitativos mostraram que o óleo resina apresentou boa atividade fungistática, porém uma das frações do óleo essencial se mostrou altamente efetiva contra *Candida parapsilosis* IOC-2882, *Aspergillus flavus* IOC-3874 e *A. tamarii* IOC-187 com halos de inibição de 16,0±1,4 mm, 19,5±2,1 mm e 12,5±3,5 mm, respectivamente. Já a avaliação quantitativa mostrou que 0,3 mg mL<sup>-1</sup> do óleo resina inibiu o crescimento de *A. flavus* e *C. parapsilosis*, enquanto que 0,08 mg mL<sup>-1</sup> da fração do óleo essencial atingiu esta mesma atividade.

**Palavras-chave:** *Copaifera multijuga*, óleo essencial, atividade antifúngico, *Aspergillus*, *Candida*

**ABSTRACT:** *In vitro* fungitoxic effect of the oil-resin and the essential oil of copaiba (*Copaifera multijuga* Hayne). *Copaifera multijuga* Hayne oil, crude and fractions, was evaluated for its *in vitro* fungitoxic activities against five species of filamentous fungi belonging to the genus *Aspergillus* and three yeast species of the genus *Candida*. Oil-resin and essential oil concentrations ranging from 0.008 mg mL<sup>-1</sup> to 1.6 mg mL<sup>-1</sup> were used in qualitative and quantitative analyses. Samples were placed onto 5mm-diameter paper disks and distributed on Saboraud culture medium in Petri dishes inoculated with conidia and incubated at 28°C during 10 days. A solution with 1.6 mg mL<sup>-1</sup> of miconazole nitrate was used as positive control. Qualitative results indicated that the oil-resin presented good fungistatic activity; however, one of the essential oil fractions was highly effective against *Candida parapsilosis* IOC-2882, *Aspergillus flavus* IOC-3874 and *A. tamarii* IOC-187, with inhibition halos of 16.0±1.4 mm, 19.5±2.1 mm and 12.5±3.5 mm, respectively. The quantitative evaluation indicated that 0.3 mg mL<sup>-1</sup> of the oil-resin inhibited *Aspergillus flavus* and *Candida parapsilosis* growth, whereas 0.08 mg mL<sup>-1</sup> of the essential oil fraction reached this same activity.

**Key words:** *Copaifera multijuga*, essential oil, antifungal activity, *Aspergillus*, *Candida*

### INTRODUÇÃO

Diversas doenças microbianas de origens bacteriana, viral ou fúngica são relatadas na literatura. Em muitos casos, os microorganismos responsáveis pelas infecções adquirem resistência ao medicamento administrado, e por este motivo um grande número

de antibióticos tem sido desenvolvido (Koshi & Cherian, 1995; Kubo et al., 1993). Paralelamente, a busca de antimicrobianos de origem natural que apresentem atividade sobre um grande espectro de microorganismos e que possam ser usados como

alternativa aos antibióticos convencionais tem despertado o interesse da classe científica, sobretudo nas moléculas de origem vegetal, já que as plantas podem sintetizar substâncias químicas com estruturas diversificadas, como sistema de defesa contra agentes patogênicos (Rodrigues et al., 1997). Para serem efetivas como agentes antimicrobianos, as substâncias precisam ser produzidas e acumuladas em concentrações suficientes nos órgãos e sítios intracelulares, e se são efetivas em tecidos vegetais poderão ser efetivas em tecidos animais (Santos, 1996). Este assunto vem ao encontro da investigação sistemática sobre os aspectos microbiológicos, profiláticos e terapêuticos das infecções oportunistas (Rodrigues et al., 1997). Dentro deste assunto, ressaltam-se as infecções fúngicas que correspondem até 10% do total de casos, com predomínio de microorganismos dos gêneros *Candida* e *Aspergillus* (Mylonakis & Calderwood, 2001; Koshi & Cherian, 1995).

O principal tratamento para a infecção fúngica é a antibioticoterapia endovenosa prolongada (Verghese et al., 1998; Menesalvas & Bouza, 1998). O tratamento específico de doenças causadas por fungos é prolongado em função da dificuldade diagnóstica mais do que às infecções causadas por bactérias; fato este que limita o arsenal antimicrobiano contra este tipo de patógeno. Deste modo, a busca de antimicrobianos de origem vegetal se apresenta com grande potencial em função das células vegetais reagirem contra patógenos, além de que possam ser mais eficientes no tratamento dessas infecções micóticas e menos tóxicas aos pacientes (Recio et al., 1989; Farnsworth, 1996).

Entre as diversas famílias de plantas estudadas, destaca-se a Leguminosae que está dividida em três subfamílias: Caesalpinoideae, Mimosoideae e Papilionoideae ou Faboideae (Judd et al., 1999). Nesta classificação, destaca-se o gênero *Copaifera*, pertencente à subfamília Caesalpinoideae (Andrade Jr. et al., 2000; Veiga Jr. & Pinto, 2002), gênero que apresenta 16 espécies ocorrentes no Brasil das quais apenas quatro ocorrem na região Norte, onde o óleo de copaíba é amplamente comercializado e utilizado na medicina popular (Cascon & Gilbert, 2000).

O óleo de copaíba é constituído de dois grupos de substâncias distintas, solúveis entre si, sendo um constituído de substâncias voláteis, correspondendo a cerca de 90% de massa do óleo resina e outro grupo constituído de substâncias não voláteis, resinosa de cor caramelo que começa a ser decomposta à temperatura próxima de 300°C, e que corresponde a 10% da massa total do óleo resina (Veiga Júnior, 1997).

Neste trabalho, descrevem-se as avaliações dos potenciais antifúngicos do óleo resina e do óleo essencial de copaíba, comparando-se os níveis de fungitoxidade dos óleos naturais com o nitrato de miconazol, um fungicida comercial, frente a cinco

espécies de fungos filamentos do gênero *Aspergillus* e três espécies de leveduras do gênero *Candida*.

## MATERIAL E MÉTODO

### Coleta do óleo resina de copaíba

O óleo resina de copaíba foi coletado no município de Santarém pertencente à mesorregião do Baixo Amazonas e à microrregião Santarém, situado à latitude 02° 25' 30"S, longitude 54° 42' 50"W. A espécie foi identificada como *Copaifera multijuga* Hayne apresentando um registro de exsicata de número INPA-82418 depositado no herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

Para obtenção do óleo, foi usado trado manual de 7/8 polegada de diâmetro e 1,0 metro de comprimento. A árvore foi perfurada à altura de 60 a 70 centímetros do chão, até o centro do caule (20 a 50 cm de profundidade no tronco, conforme o diâmetro da árvore), com pequeno declive para escoamento. Uma mangueira de 3/4 de polegada foi colocada bem ajustada no orifício e no outro extremo do tubo foi colocado frasco de vidro âmbar de 1 litro. Após a colheita, o furo foi tampado com rolha de madeira ou com argila e a árvore foi preservada recebendo curativo. Este método produz pouco óleo, tem altos custos operacionais, mas preserva a árvore, para colheitas futuras e é ecologicamente correto (Azevedo, 2004).

### Obtenção das linhagens de fungos utilizados nos ensaios

As cepas de microorganismos das espécies *Aspergillus flavus* (IOC-3974), *Aspergillus niger* (IOC-200), *Aspergillus tamarii* (IOC-186), *Aspergillus tamarii* (IOC-187), *Aspergillus terreus* (IOC-217), *Candida guilliermondii* (IOC-2889), *Candida tropicalis* (IOC-3610) e *Candida parapsilosis* (IOC-2882), empregadas neste trabalho foram obtidas do laboratório de coleção de fungos do Instituto Osvaldo Cruz (Fiocruz-RJ).

### Meio de cultura e cultivo dos microorganismos

O meio de cultura utilizado para este experimento foi o ASD (Ágar Sabouraud-Dextrose) depositado em cada placa de Petri na quantidade de 20 mL de meio. O método de investigação de atividade fungitóxica aplicado neste trabalho foi adaptado e segue um protocolo de execução no Laboratório de Investigação Sistemática em Biotecnologia e Química Fina (LabISisBio) da Universidade Federal do Pará (UFPA)/ Instituto de Química.

### Obtenção do óleo essencial

Exatamente 100 mL do óleo resina de copaíba foram submetidos à destilação em balão de fundo redondo de 250 mL, no qual foram adaptados uma coluna de destilação de 30 cm de comprimento

por 2 cm de diâmetro e um condensador de 40 cm de comprimento com 1 cm de diâmetro de serpentina no qual foi acoplada refrigeração com circulação de água com vazão de 4 L por minuto a uma temperatura de 10°C. O procedimento foi realizado durante 5h, obtendo-se 75 mL de destilado, os quais foram transferidos para frasco de vidro de cor âmbar, hermeticamente fechado e armazenado em temperatura de 5°C para uso posterior.

#### Preparo do inóculo

O inóculo dos diferentes microrganismos descritos foram preparados através do cultivo em tubos de ensaio de 15 cm x 1,5 cm com tampa, contendo 5 mL de meio de cultura na posição inclinada e incubados a 28°C, durante 7 dias. Após este período, adicionou-se 3 mL de água estéril com subsequente agitação em Vortex (QUIMIS-220A) durante 1 min. As suspensões de esporos contendo 10<sup>6</sup> esporos por mililitro foram transferidas para frascos com tampas e mantidas sob refrigeração a uma temperatura de 10°C para uso posterior como inóculo.

#### Análise do óleo de copaíba via CG/EM

CG/EM: o óleo resina e o essencial foram analisados por Cromatografia de Gás (Focus GC) acoplado a um Espectrometro de Massas em sistema Thermo DSQII, com coluna capilar de sílica OV-5 (30m x 0,25 mm; 0,25 µm de espessura do filme). A programação de temperatura foi de 60C-240°C (3C min<sup>-1</sup>); He foi utilizado como gás de arraste a uma velocidade linear de 32 cm s<sup>-1</sup>, medidas a 100°C. A injeção foi do tipo “splitless”; com volume de 0,1 µL de uma solução de 2 µL do óleo em 1000 µL de hexano.

Os espectros de massas foram obtidos por impacto eletrônico a 70eV com temperatura da fonte de íons a 200°C. A identificação foi realizada por comparação de seu cromatograma, índice de retenção ou índice de Kovatz com dados da literatura (Santos et al., 1998; Adams, 2001; Luz et al., 1981).

#### Determinação qualitativa da atividade antifúngica do óleo resina e do óleo essencial de copaíba

Aplicando a técnica de Atividade Sobre Camada Microbiana (ASCM) adaptado da técnica de difusão em Agar, onde um swab foi embebido na suspensão de esporos efetuando-se o espalhamento do microorganismo sobre a superfície do meio sólido, de modo a se obter um tapete fúngico após seu crescimento (Apisariyakul et al., 1995; Brandão, 2004; Rios et al., 1998). Logo após a inoculação foram dispostos, sobre o meio de cultura, seis discos de papel de filtro whatman nº 1 com diâmetro de 5 mm. Os discos

1, 2 e 3 continham 2 µl de óleo resina, cada. Os discos 4 e 5 continham 2 µl de solução comercial de miconazol, na concentração de 1,6 mg mL<sup>-1</sup>. O disco 6 continha apenas água destilada. Procedimento idêntico foi realizado para cada microorganismo e repetido para o óleo essencial. As placas foram incubadas a 28°C durante 10 dias e observadas a cada 24h.

#### Determinação quantitativa da atividade antimicrobiana do óleo resina e do óleo essencial de copaíba

Em tubos de ensaio estéreis de 12 cm x 1,5 cm foram adicionados 500 µL de Tween-80 e 5 mL de água desionizada, efetuando-se a homogeneização da mistura por agitação manual. A seguir, foram transferidas quantidades programadas de óleo resina ou óleo essencial de copaíba a fim de se obter suspensões nas concentrações de: 1,6 mg mL<sup>-1</sup>, 1,4 mg mL<sup>-1</sup>, 1,3 mg mL<sup>-1</sup>, 1,1 mg mL<sup>-1</sup>, 0,9 mg mL<sup>-1</sup>, 0,8 mg mL<sup>-1</sup>, 0,6 mg mL<sup>-1</sup>, 0,5 mg mL<sup>-1</sup>, 0,3 mg mL<sup>-1</sup>, 0,1 mg mL<sup>-1</sup>, 0,08 mg mL<sup>-1</sup>. A partir destas suspensões foram retiradas alíquotas de 2 µL e inoculadas de acordo com o procedimento anterior. As placas foram incubadas durante 10 dias a 28°C e observada a formação dos halos a cada 24h. Os ensaios foram realizados em triplicata.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

#### Avaliação do efeito fungitóxico.

Quanto aos efeitos fungitóxicos do óleo resina e do óleo essencial de *Copaifera multijuga* Hayne, sobre a germinação de esporos das cepas de *Aspergillus flavus* (IOC-3974), *Aspergillus niger* (IOC-200), *Aspergillus tamaritii* (IOC-186), *Aspergillus tamaritii* (IOC-187), *Aspergillus terreus* (IOC-217), e nas divisões das células de *Candida guilliermondii* (IOC-2889), *Candida tropicalis* (IOC-3610) e *Candida parapsilosis* (IOC-2882), observou-se a formação de um tapete fúngico contínuo sobre todas as placas sendo visualizada a formação de halos em torno dos discos de papel contendo, tanto o óleo essencial quanto o óleo resina. Os resultados foram comparados com o nitrato de miconazol nas mesmas condições que as amostras, com concentração mínima de 1,6 mg mL<sup>-1</sup>, o que corresponde a 32 µg de óleo essencial por disco de papel.

O halo formado ao redor da amostra contendo o óleo resina se formou com um diâmetro mínimo de 7 mm, ou seja 30% menor que o halo formado com a amostra contendo miconazol. Este resultado ressalta a presença da atividade em 8 dias para as *Candida*, porém a partir deste período a atividade declinou havendo o avanço microbiano sobre a zona inibida.

Por este motivo, e com base nas observações, o óleo resina desta espécie apresentou apenas atividade fungistática para as leveduras. Já para nos fungos filamentosos, os halos de inibição foram maiores demonstrando que estes microrganismos são menos tolerantes ao óleo resina do que as leveduras (Tabela 1).

O óleo essencial apresentou halo de inibição com diâmetro de 19,5 mm, maior 25% do que o halo de inibição produzido pelo nitrato de miconazol (controle positivo). Neste contexto, se observou que a formação do halo se manteve apenas por 8 dias para todas as linhagens, permitindo que se pudesse

afirmar que o óleo essencial apresentou atividade fungistática neste período, porém o óleo essencial apresentou atividade superior ao óleo resina, principalmente frente *Aspergillus flavus* e *Candida parapsilosis*, possivelmente, causada pelo aumento nas concentrações de  $\alpha$ -copaeno (Tabela 2), já que óxido-de-cariofileno não apresentou atividade antimicrobiana (resultado não apresentado). O óleo resina de copaíba apresentou densidade de 0.8466 mg mL<sup>-1</sup>, propriedade que foi usada para a conversão de volume em massa. O valor da densidade encontrado está dentro da faixa descrita na literatura para óleo resina.

**TABELA 1.** Resultados dos halos de inibição do crescimento de fungos frente ao efeito antifúngico do óleo resina e do óleo essencial de copaíba.

Microrganismos	Halo de inibição (mm)			
	Oleo resina	Oleo essencial	Nitrato de Miconazol	Controle negativo
<i>Aspergillus flavus</i> (IOC-3974)	11,0± 1,1	19,5± 2,1	15,0± 1,1	0
<i>Aspergillus níger</i> (IOC- 200)	9,0± 0,0	9,5± 0,7	10,0± 1,4	0
<i>Aspergillus tamaritii</i> (IOC-186)	9,0± 1,0	9,0± 0,0	9,5± 1,0	0
<i>Aspergillus tamaritii</i> (IOC-187)	10,0± 1,1	12,5± 3,5	10,0± 1,1	0
<i>Aspergillus terreus</i> (IOC-217)	10,0± 2,1	11,5± 2,1	13,0± 0,0	0
<i>Candida guilliermondii</i> (IOC-2889)	7,0 ± 1,0	9,5 ± 1,1	10,0± 0,0	0
<i>Candida tropicalis</i> (IOC-3610)	8,0 ± 0,0	10,0 ± 0,0	11,0± 1,0	0
<i>Candida parapsilosis</i> (IOC-2882)	9,0± 2,2	16,0± 1,4	15,0± 0,0	0

Concentração de óleo resina 1,6 mg mL<sup>-1</sup> (32 µg de óleo por disco). Concentração de óleo essencial 1,6 mg mL<sup>-1</sup>. Concentração de nitrato de miconazol 1,6 mg mL<sup>-1</sup>. Controle negativo: solução de água + tween-80

As composições químicas voláteis do óleo resina e do óleo essencial foram analisadas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), nas quais se observou as presenças de 23 constituintes no óleo resina e 7 constituintes no óleo essencial, ressaltando-se variações modestas nas concentrações de poucos constituintes, e variações mais significativas para  $\alpha$ -copaeno, óxido-de-cariofileno e  $\beta$ -cariofileno (Tabela 2). Desta forma, se supôs que as substâncias químicas  $\alpha$ -copaeno,  $\beta$ -cariofileno, Trans- $\alpha$ -bergamoteno,  $\alpha$ -humuleno,  $\gamma$ -muuroleno e  $\beta$ -bisaboleno fossem responsáveis pela inibição microbiana no óleo resina. Nestas condições, a inibição do crescimento microbiano foi mais efetiva com óleo essencial do que com o óleo resina.

Em relação à ação do Nitrato de Miconazol, avaliado nas mesmas condições experimentais dos óleos, verificou-se que o óleo resina ou o óleo essencial de copaíba não apresentaram diferenças significativas de atividade para os microrganismos *Aspergillus níger* (IOC- 200) e *Aspergillus tamaritii* (IOC-186), o que mostra efetividade das amostras contra os microrganismos avaliados. Resultados mais significativos foram obtidos com as cepas de *Aspergillus flavus* (IOC-3974), *Aspergillus tamaritii* (IOC-187) e *Candida parapsilosis* (IOC-2882) que apresentaram halos de inibição maiores do que a do miconazol, o que sugeriu caracterizar o óleo essencial da espécie de *Copaifera multijuga* Hayne como agente potencial de atividade fungitóxica contra estes microrganismos.

**TABELA2.** Composições químicas do óleo resina e óleo essencial de *Copaifera multijuga* Hayne.

Pico	IR	IK	Componentes químicos	Concentração no Óleo resina (%)	Concentração na Fração do óleo essencial F <sub>10</sub> (%)
1	20.57	1339	δ-elemeno	0,38	-
2	21.09	1352	α-cubebeno	0,26	-
3	22.19	1382	α-copaeno	3,04	3,29
4	22.82	1391	β-elemeno	0,90	-
5	23.12	1409	α-gurjuneno	0,19	-
6	24.20	1426	β-cariofileno	67,07	57,29
7	24.67	1436	Trans-α-bergamoteno	6,08	5,31
8	24.92	1442	NI	0,25	-
9	25.35	1457	α-humuleno	10,87	9,11
10	25.52	1461	allo-aromadendreno	0,33	-
11	26.35	1477	γ-muuruleno	3,27	1,63
12	27.10	1499	α-muuruleno	0,75	-
13	27.47	1509	β-bisaboleno	1,43	1,08
14	28.02	1524	δ-cadineno	1,34	-
15	28.31	1542	NI	0,10	-
16	28.75	1554	NI	0,12	-
17	29.68	1562	NI	0,62	-
18	30.15	1581	Óxido de cariofileno	0,64	10,34
19	31.45	1595	NI	0,11	-
20	31.88	1625	NI	0,10	-
21	32.20	1645	α-muurolo	0,57	-
22	32.53	1691	juniper cânfora	0,60	-
23	32.81	1700	Acetato de cariofileno	0,30	-

IR- índice de retenção. (-) concentrações abaixo do limite de detecção instrumental de 0,08% (NI) não identificado IK- índice Kovatz

**TABELA3.** Resultado da avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) para o óleo resina e para a fração do óleo essencial de *Copaifera multijuga* Hayne sobre a germinação de esporos dos microrganismos.

Microrganismos (Fiocruz-RJ)	Óleo resina (mg mL <sup>-1</sup> )	Óleo essencial (mg mL <sup>-1</sup> )	Nitrato de Miconazol (controle positivo) (mg mL <sup>-1</sup> )	Controle negativo
<i>Aspergillus flavus</i> (IOC-3974)	0,3	0,08*	0,1*	-
<i>Aspergillus niger</i> (IOC-200)	0,6	0,1	0,3	-
<i>Aspergillus tamarii</i> (IOC-186)	0,6	0,5**	0,3	-
<i>Aspergillus tamarii</i> (IOC-187)	0,6	0,3	0,3	-
<i>Aspergillus terreus</i> (IOC-217)	0,5	0,3	0,1	-
<i>Candida guilliermondii</i> (IOC-2889)	0,6	0,1	0,3	-
<i>Candida tropicalis</i> (IOC-3610)	0,6	0,5**	0,5**	-
<i>Candida parapsilosis</i> (IOC-2882)	0,3	0,1	0,1	-

(-) sem interferência na germinação dos esporos. \*halo com 2mm, \*\*halo com 3mm 16 mg por disco

### Avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do óleo resina e do óleo essencial de copaíba

A Concentração Inibitória Mínima (CIM) necessária para inibir o crescimento de *Aspergillus flavus* foi de 0,08 mg de óleo essencial por mL de solução, o que corresponde a 0,16 µg de óleo, já que as densidades tanto do óleo resina quanto do óleo essencial não apresentaram grandes diferenças. Nestas condições se confirmou que a cepa de *Aspergillus flavus* foi mais suscetível a inibição do que as demais cepas analisadas. A diferença de inibição entre o óleo resina e a fração obtida (Tabela 3), indica a importância da destilação fracionada para atividade antimicrobiana, de acordo com o procedimento executado. Esta ação promoveu minimização de interferência de outras substâncias químicas presentes no óleo resina de copaíba, além de reduzir o número de variáveis para se identificação as substâncias responsáveis pela atividade avaliada.

### CONCLUSÃO

Quanto à atividade antimicrobiana observada para o óleo resina e óleo essencial de *Copaifera multijuga* Hayne durante os dez dias se supõe que os microorganismos estão degradando as substâncias inibitórias, o que é pouco provável, ou as mesmas estão se difundindo no ar por volatilização, fenômeno que permitiu a minimização do efeito tóxico no meio de cultura, fazendo com que os microorganismos pudessem se desenvolver após o período de 10 dias. Esta proposição se baseia no fato de que o período foi o mesmo, tanto para as leveduras quanto para os fungos filamentosos. De um modo mais específico, a inibição dos microorganismos do gênero *Aspergillus* e *Candida* é extremamente promissora, em virtude dos valores de inibição terem atingido índices acima de 90%, indicando que a fração F<sub>10</sub> apresenta potencial de uso como agente fungistático no período de 10 dias, nas condições supradescritas. A relevância dos resultados é devida aos valores de halo de inibição encontrados para a fração F<sub>10</sub> serem superiores ao Nitrato de Miconazol, que foi utilizado como controle positivo. Conclusivamente, índices iguais ou maiores do que 85% apresentam bom potencial de ação antimicrobiana para usos práticos, razão pela qual nos permite afirmar que o óleo essencial de *C. multijuga* Hayne poderá ser um bom indicativo para estudos mais específicos nos combates à aspergilose ou candidíase.

### REFERÊNCIA

ADAMS, R.P. **Identification of essential oil components by gas chromatography / quadrupole mass Spectrometry**. Carol Stream, IL: Allured Publishing

Corporation, 2001. 456p.

ANDRADE JUNIOR, M.A. et al. Distribuição geográfica e aspectos de identificação taxonômica de *Copaifera officinalis* L. (Caesalpiniaceae), com inclusão de registros de ocorrência de *Copaifera spp.* em Roraima. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 51., 2000, Brasília. **Anais ...** Brasília: Sociedade Botânica do Brasil, 2000. p.152.

APISARIYAKUL, A.; VANITTANAKOM, M.; BUDDHASUKH, D. Antifungal activity of turmeric oil extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.49, p.163-9, 1995.

AZEVEDO, O.C.R. **Copaíba: estrutura populacional, produção e qualidade do óleo-resina em populações nativas do sudoeste da Amazônia**. 2004. 125p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais) - Centro de Pesquisa Agroflorestal, Universidade Federal do Acre, Rio Branco.

BRANDÃO, G.C. **Isolamento biomonitorado de substâncias antimicrobianas de *Polygonum spectabile* Mart e determinação da CIM para uma chalcona antimicrobiana**. 2004. 194p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CASCON, V.; GILBERT, B. Characterization of the chemical composition of oleoresins of *Copaifera guianensis* Desf., *Copaifera duckei* Dwyer and *Copaifera multijuga* Hayne. **Phytochemistry**, v.55, p.773-8, 2000.

FARNSWORTH, N.R. Biological and phytochemical screening of plants. **Journal of Pharmaceutical Science**, v.55, n.3, p.225-76, 1996.

JUDD, S.W. et al. **Plant systematics a phylogenetic approach**. Sunderland: Ed. Sinaures, 1999. 283p.

KOSHI, G.; CHERIAN, K.M. *Aspergillus terreus*, an uncommon fungus causing aortic root abscess and pseudoaneurysm. **Indian Heart Journal**, v.47, p.265-7, 1995.

KUBO, I.; MUROI, H.; HEMIJIMA, M. Combination effects of antifungal nagilactones against *Candida albicans* and two other fungi with phenylpropanoids. **Journal of Natural Products**, v.56, p.220-6, 1993.

LUZ, A.I.R. et al. 1. Óleos essenciais, oleaginosas e latices da Amazônia, 2. Estudo químico comparativo e cinética de auto-oxidação dos óleos essenciais de diferentes espécies de copaíba. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA PROGRESSO DA CIÊNCIA, 33., 1981, Salvador. **Anais ...** Salvador: Sociedade para o Progresso da Ciência, 1981.

MENESALVAS, A.; BOUZA, E. Infective endocarditis caused by unusual microorganisms. **Revista Especializada em Cardiologia**, v.51, n.2, p.79-85, 1998.

MYLONAKIS, E.; CALDERWOOD, S.B. Infective endocarditis in adults. **New England Journal of Medicine**, v.345, p.1318-30, 2001.

RECIO, M.C.; RIOS, J.L.; VILLAR, A. A review of some antimicrobial compounds isolated from medicinal plants reported in the literature 1978-1988. **Phytotherapy Research**, v.3, n.4, p.117-25, 1989.

RIOS, J.L.; RECIO, M.C.; VILLAR, A. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. **Journal of Ethnopharmacology**, v.23, p.127-49, 1998.

- RODRIGUES, E.A.C. et al. **Infecções hospitalares: prevenção e controle.** São Paulo: Sarvier, 1997. p.561-70.
- SANTOS, A.S. **Indução da produção e acúmulo de coccineona (Isoflavonoides) em cultura de tecidos de *Boerhaavia coccinea* P. Miler.** 1996. 200p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Química e Biotecnologia) - Instituto de Química e Biotecnologia, Universidade Federal de Alagoas, Maceió.
- SANTOS, A.S. et al. Volatile constituents of fruits of *Annona glabra* L. from Brazil. **Flavour and Fragrance Journal**, v.13, p.148-50, 1998.
- VEIGA JUNIOR, V.F. **Controle de qualidade de óleos de copaíba por cromatografia Gasosa de Alta Resolução.** 1997. 89p. Dissertação (Mestrado - Área de Concentração em Química) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C. O gênero *Copaifera* L. **Química Nova**, v.25, p.273-86, 2002.
- VERGHESE, S.; MULLASARI, A.; PADMAJA, P. Fungal endocarditis cardiac surgery. **Indian Heart Journal**, v.50, p.418-22, 1998.