

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
UNIDADE ACADÊMICA CENTRO DE TECNOLOGIA
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA**

JOSÉ FERREIRA TORRES NETO

**REAPROVEITAMENTO DE ÓLEO VEGETAL RESIDUAL NA PRODUÇÃO DE
SABÕES: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO PELA ADIÇÃO DE
ÓLEOS ESSENCIAIS**

Maceió
2023

JOSÉ FERREIRA TORRES NETO

**REAPROVEITAMENTO DE ÓLEO VEGETAL RESIDUAL NA PRODUÇÃO DE
SABÕES: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO PELA ADIÇÃO DE
ÓLEOS ESSENCIAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia Química da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Jorge José de Brito Silva

Coorientador: Mestrando Wanderson dos Santos Carneiro

Maceió
2023

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Livia Silva dos Santos CRB - 1670

T693r Torres Neto, José Ferreira.

Reaproveitamento de óleo vegetal residual na produção de sabões: avaliação do potencial antifúngico pela adição de óleos essenciais / José Ferreira Torres Neto. – 2023.

44 f.:il.

Orientador: Jorge José de Brito Silva.

Coorientador: Wanderson dos Santos Carneiro.

Monografia (Trabalho de Conclusão de Curso em Engenharia Química) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Tecnologia. Maceió, 2023.

Bibliografia: f. 39-44

1. Atividade antimicrobiana. 2. Óleos essenciais - Sabão. 3. Óleo de cozinha - Sabão. 4. Óleo vegetal - Reutilização. I. Título.

CDU: 662.756.3:661.18



Universidade Federal de Alagoas
Unidade Acadêmica Centro de Tecnologia
Curso de Engenharia Química
Av. Lourival de Melo Mota – Tabuleiro do Martins Maceió – AL
CEP: 57072-970, Tel: (82) 3214-1281



JOSÉ FERREIRA TORRES NETO

**REAPROVEITAMENTO DE ÓLEO VEGETAL RESIDUAL NA PRODUÇÃO DE
SABÕES: AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIFÚNGICO PELA ADIÇÃO DE
ÓLEOS ESSENCIAIS**

BANCA EXAMINADORA



Documento assinado digitalmente
JORGE JOSE DE BRITO SILVA
Data: 19/05/2023 16:11:04-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof.(a) Jorge José de Brito Silva (orientador)



Documento assinado digitalmente
LIVIA MARIA DE OLIVEIRA RIBEIRO
Data: 23/05/2023 08:46:27-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof.(a) Lívia Maria de Oliveira Ribeiro.



Documento assinado digitalmente
VANIA DE LOURDES DAS GRACAS TELES
Data: 23/05/2023 11:39:15-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof.(a) Vânia Teles

Maio 2023

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter permitido que eu tivesse saúde e determinação para não desanimar durante os anos de curso.

Aos meus familiares, por todo o apoio e ajuda, que muito contribuíram e me incentivaram durante todo o curso.

Ao Professor Dr. Jorge José de Brito Silva por ter sido meu orientador e ter desempenhado tal função com dedicação.

Ao meu coorientador Wanderson dos Santos Carneiro, pelas correções e ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho neste trabalho.

Aos professores do curso de Engenharia Química, por todos os conselhos, pela ajuda e pela paciência com a qual guiaram o meu aprendizado.

Aos meus colegas de curso, com quem convivi intensamente durante os últimos anos, pelo companheirismo e pela troca de experiências que me permitiram crescer não só como pessoa, mas também como formando.

A todos que participaram, direta ou indiretamente, do desenvolvimento deste trabalho de pesquisa, enriquecendo o meu processo de aprendizado.

RESUMO

O reaproveitamento do óleo de cozinha (óleo vegetal) para produção de sabão se mostra como uma alternativa importante para o meio ambiente, já que o óleo de cozinha se encontra entre os resíduos que não tem seu método de descarte bem definido. Para conferir aroma é possível adicionar aditivos ao sabão, como por exemplo óleos essenciais. Os óleos essenciais possuem potencial medicinal, cuja a atividade antimicrobiana tem sido bastante estudada e avaliada por diferentes métodos. Nos métodos de difusão, o microrganismo é testado contra um agente antimicrobiano em meio sólido, onde através do diâmetro dos halos de inibição é possível analisar os resultados obtidos. Nesse sentido, o presente trabalho tem o objetivo de comparar a eficácia de diferentes óleos essenciais (cravo, capim cidreira e canela) para avaliação de atividade antimicrobiana quando utilizados como aditivo ao sabão produzido a partir de óleo de cozinha usado. A extração dos óleos essenciais foi realizada por hidrodestilação utilizando um aparelho Clevenger modificado, em seguida foram produzidas barras de sabão (reutilizando óleo de cozinha) com adição dos diferentes óleos essenciais extraídos. Amostras de cada barra de sabão foram diluídas e utilizadas em ensaios utilizando métodos de difusão (teste de difusão em disco). A partir das análises dos testes de difusão em disco, onde não houve a formação de halos de inibição, não foi possível confirmar o potencial antifúngico dos sabões produzidos.

Palavras-Chave: Sabão; Óleos essenciais; Atividade antimicrobiana; Difusão em disco.

ABSTRACT

The reuse of cooking oil (vegetable oil) for soap production is an important alternative for the environment, since cooking oil is among the types of waste that do not have a well-defined disposal method. To add aroma it is possible to add additives to the soap, such as essential oils. Essential oils have medicinal potential, whose antimicrobial activity has been extensively studied and evaluated by different methods. In diffusion methods, the microorganism is tested against an antimicrobial agent in solid medium, where through the diameter of the inhibition halos it is possible to analyze the results obtained. In this sense, the present work aims to compare the effectiveness of different essential oils (clove, lemongrass and cinnamon) for the evaluation of antimicrobial activity when used as an additive to soap produced from used cooking oil. The extraction of essential oils was performed by hydrodistillation using a modified Clevenger apparatus, then soap bars were produced (reusing cooking oil) with the addition of the different extracted essential oils. Samples of each soap bar were diluted and used in tests using diffusion methods (disc diffusion test). Based on the analyzes of the disk diffusion tests, where there was no formation of inhibition halos, it was not possible to confirm the antifungal potential of the soaps produced.

Keywords: Soap; Essencial oils; Antimicrobian activity; Disc broadcast.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Poluição causada pelo óleo descartado no meio ambiente	13
Figura 2 - Reação de saponificação para a produção de sabão	14
Figura 3 - Representação de uma molécula de sabão	14
Figura 4 - Molécula de cinamaldeído	15
Figura 5 - Molécula de eugenol	16
Figura 6 - Molécula de citral	17
Figura 7 - Aparelho de destilação Clevenger	18
Figura 8 - Fluxograma dos métodos para avaliação da atividade antimicrobiana	20
Figura 9 - Teste de difusão em disco	21
Figura 10 - Método de macrodiluição	22
Figura 11 - Exemplo de esquema de uso de placa de 96 poços	23
Figura 12 - Imagem microscópica do <i>Aspergillus niger</i>	24
Figura 13 - Fluxograma da metodologia de pesquisa	25
Figura 14 - Aparelho de Clevenger modificado	27
Figura 15 - Mistura heterogênea de água e óleo essencial	27
Figura 16 - Mistura da solução contendo óleo vegetal usado e NaOH	28
Figura 17 - Meio de cultura vertido sob as placas de petri.	29
Figura 18 - Diluições seriadas das soluções de sabão	29
Figura 19 - Placa de petri com discos embebidos com as soluções de sabão	30
Figura 20 - Mistura heterogênea de água e óleo essencial de cravo-da-índia	32
Figura 21 - Hidrolato capim cidreira	33
Figura 22 - Barras de sabão produzidas	34
Figura 23 - Tentativa de solução de sabão com concentração de 400,0 mg/mL	34
Figura 24 - Discos com concentração de 200,0 mg/mL	35
Figura 25 - Discos com concentração de 100,0 mg/mL	35
Figura 26 - Discos com concentração de 50,0 mg/mL	35
Figura 27 - Discos com concentração de 25,0 mg/mL	35
Figura 28 - Placa sem os discos embebidos de sabão	35

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	10
2.	OBJETIVOS	11
2.1.	Geral	11
2.2.	Específicos	11
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1.	Reaproveitamento do óleo vegetal residual	12
3.2.	Produção de sabões a partir de óleo de cozinha usado	13
3.3.	Óleos essenciais	14
3.3.1.	Óleo essencial de canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)	15
3.3.2.	Óleo essencial de cravo-da-índia (<i>Syzygium aromaticum</i>)	16
3.3.3.	Óleo essencial de capim cidreira (<i>Cymbopogon citratus</i>)	17
3.4.	Extração dos óleos essenciais	17
3.4.1.	Hidrodestilação	17
3.4.2.	Destilação por arraste a vapor	18
3.4.3.	Extração por solventes orgânicos	18
3.4.4.	Extração por fluido supercrítico	19
3.4.5.	Prensagem a frio	19
3.5.	Métodos para avaliar atividade antimicrobiana	19
3.5.1.	Métodos de difusão	20
3.5.1.1.	Teste de difusão em disco	20
3.5.1.2.	Perfuração em ágar	21
3.5.2.	Métodos de diluição em caldo	21
3.5.2.1.	Macrodiluição	22
3.5.2.2.	Microdiluição	22
3.6.	Fungo <i>Aspergillus niger</i>	23
4.	METODOLOGIA	25
4.1.	Materiais e reagentes	25
4.2.	Métodos	26
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
5.1.	Extração dos óleos essenciais por hidrodestilação	31
5.2.	Barras de sabão	33

5.3.	Potencial antifúngico	35
6.	CONCLUSÃO	37
7.	SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS	38
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

1 INTRODUÇÃO

O descarte inapropriado de óleo de cozinha usado na rede de esgoto ou em lixo comum provoca graves consequências, favorecendo a degradação dos ecossistemas (CASSARO; BRASIL; ALMEIDA, 2012).

A reutilização do óleo de cozinha é extremamente importante para evitar a degradação ambiental e os problemas no tratamento de água e esgoto. O grande problema é que apenas uma pequena parte do óleo descartado é reutilizado. O óleo vegetal residual pode ser utilizado como matéria-prima para produção de diversos produtos, como por exemplo sabões, biodiesel, detergentes, amaciantes, resina para tinta, entre outros. Reaproveitar o óleo de cozinha usado como matéria-prima para produção de sabão é uma das alternativas mais utilizadas devido a simplicidade do seu processo, onde também podem ser adicionados óleos essenciais, que são responsáveis pelo aroma exalado pelos sabões.

Óleos essenciais, também chamados de óleos voláteis, essências ou óleos etéreos, são princípios ativos presentes em plantas aromáticas constituídos de uma mistura de substâncias voláteis e hidrofóbicas (LOPES, 2011, p. 43). São compostos simples e geralmente com estrutura cíclica, são voláteis devido ao seu baixo peso molecular e tem propriedades antibacterianas, antifúngicas, antisépticas, refrescantes e anti-inflamatórias (LOPES, 2011; PEREIRA, 2006). Devido a essas propriedades, o estudo do efeito inibitório dos óleos essenciais em microrganismos tem se tornado uma alternativa para redução de aditivos químicos na indústria (PEREIRA, 2008).

Existem algumas metodologias utilizadas para avaliação de atividade antimicrobiana, sendo mais conhecidos os métodos de difusão (teste de difusão em disco e perfuração em ágar) e os métodos de diluição em caldo (macrodiluição e microdiluição), onde nos métodos de difusão o objetivo é testar o microrganismo contra uma substância biologicamente ativa em um meio sólido. A difusão do agente antimicrobiano leva a formação de halos de inibição do crescimento bacteriano (SEJAS, 2003). Nos métodos de diluição em caldo são consideradas a relação entre a proporção de crescimento do microrganismo no meio líquido e a concentração da substância ensaiada.

Diante do que foi exposto, o presente trabalho tem como objetivo analisar a atividade antifúngica de barras de sabões produzidas a partir óleo vegetal residual com a adição de diferentes óleos essenciais.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Comparar a atividade antifúngica dos óleos essenciais extraídos a partir de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), capim-cidreira (*Cymbopogon citratus*) e canela (*Cinnamomum zeylanicum*) quando utilizados como aditivos na produção de sabão a partir de óleo de cozinha usado (óleo vegetal).

2.2 Específicos

- Aplicação do método de hidrodestilação para a extração dos óleos essenciais;
- Estudo do processo de produção de sabões com óleo vegetal residual;
- Aplicação de atividades microbiológicas;
- Aplicação dos métodos de difusão em disco;
- Analisar o comportamento dos óleos essenciais quando utilizados na produção de sabão;
- Avaliar qual tipo de óleo essencial apresenta os melhores resultados para atividade antifúngica.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A produção de sabão tem se mostrado como uma alternativa importante para o óleo de cozinha usado (óleo vegetal). A reutilização do óleo de cozinha pode trazer vantagens competitivas e evitar a degradação ambiental e problemas no sistema de tratamento de água e esgoto, já que este resíduo pode servir de matéria-prima para fabricação de diversos produtos, como biodiesel, tintas, sabão, detergentes, entre outros (MORGAN-MARTINS, 2016). Sendo o processo de fabricação do sabão considerado um dos mais simples entre os processos de reaproveitamento do óleo residual (SILVA, 2013).

3.1 Reaproveitamento do óleo vegetal residual

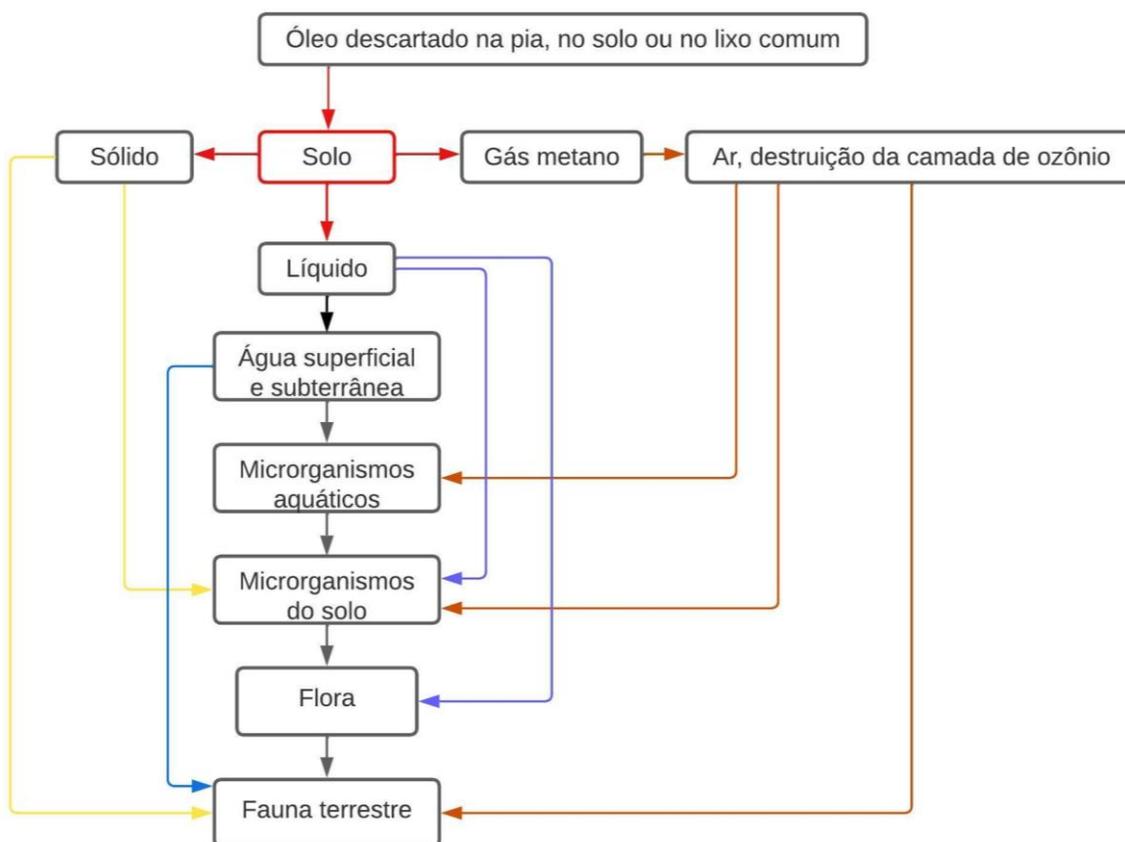
Os óleos vegetais são produtos naturais constituídos por uma mistura de ésteres derivados do glicerol (triacilgliceróis ou triglicerídeos), cujos ácidos graxos contêm cadeias de 8 a 24 átomos de carbono com diferentes graus de insaturação (SILVA, 2017, p.2).

Segundo a Associação Brasileira para Sensibilização, Coleta e Reciclagem de Resíduos de Óleo Comestível (ECÓLEO, 2023), o Brasil produz 9 bilhões de litros de óleos vegetais por ano, sendo cerca de 3 bilhões desse montante destinados a produção de óleos comestíveis. Quando descartado de forma irregular, o óleo causa impactos ambientais significativos, gerando problemas nas redes de esgoto e estações de tratamento. De acordo com Tescarollo (2015), quando o esgoto não passa por um tratamento adequado antes de ser lançado ao corpo hídrico receptor, há a elevação da concentração de ácidos graxos insolúveis nos mesmo, alterando o pH e diminuindo as trocas gasosas entre a água e a atmosfera. Sendo os óleos substâncias insolúveis em água (hidrofóbicas), devido a sua formação predominantemente de ésteres de triacilgliceróis, porém são solúveis em solventes orgânicos, e em função desta imiscibilidade e por ter uma densidade menor que a água, quando são jogados em corpos hídricos, o óleo emerge à superfície formando uma fina camada sobre a água (WILDNER; HILLIG, 2012, p.816). Além disso, a temperatura do óleo pode chegar a 60 ° C devido a influência da radiação solar, ocasionado a morte de espécies animais e vegetais (TESCAROLLO, 2015).

Embora o óleo simbolize uma pequena parcela da quantidade de lixo gerado, atualmente ele é considerado o maior poluidor de águas doces e salgadas das regiões mais populosas, onde uma tonelada de óleo despejado em corpos d'água é equivalente a uma carga

poluidora de 40 mil habitantes (ECÓLEO, 2018). Estima-se que cada litro de óleo jogado no esgoto pode contaminar até 25 mil litros de água (SABESP, 2021). O Fluxograma da Figura 1 mostra as consequências causadas pelo descarte irregular do óleo no meio ambiente.

Figura 1 - Poluição causada pelo óleo vegetal descartado no meio ambiente

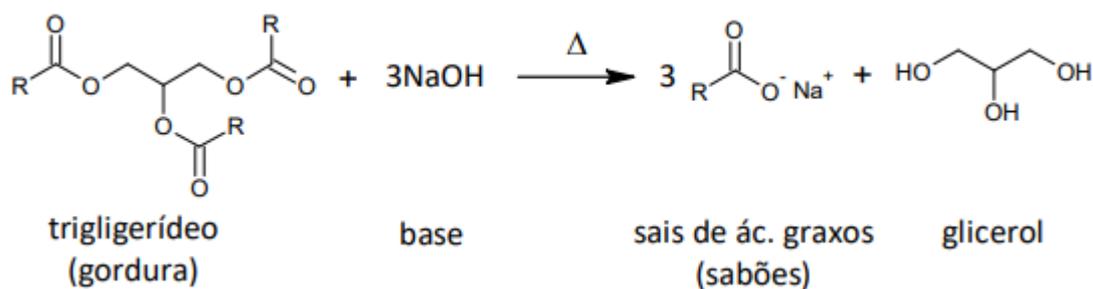


Fonte: Wildner; Hillig, 2012.

3.2 Produção de sabões a partir de óleo de cozinha usado

O sabão é produzido a partir da reação química entre um ácido graxo (óleos vegetais) com uma base forte (hidróxido de sódio (NaOH)), com aquecimento sofre hidrólise formando glicerol e sal de ácido graxo (ARAÚJO, 2018, p.2). Essa reação é chamada de reação de saponificação. A Figura 2 mostra o esquema da reação de saponificação para o sabão, onde R são cadeias carbônicas que podem variar de acordo com o tipo de óleo utilizado.

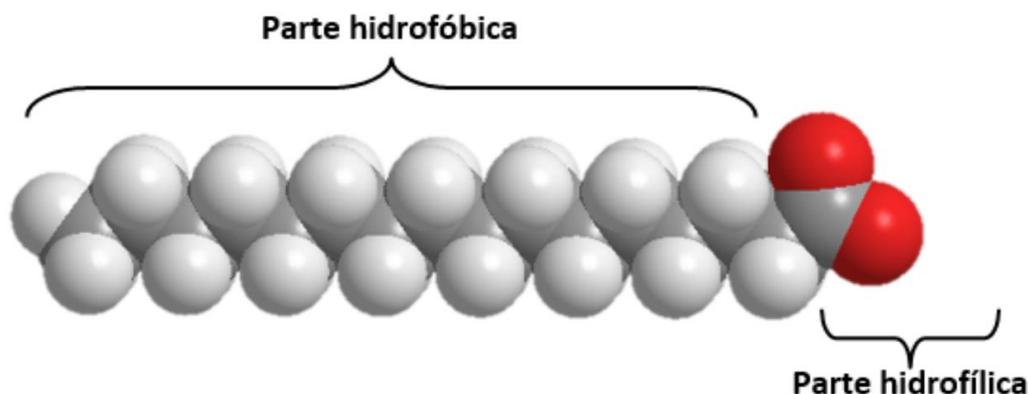
Figura 2 - Reação de saponificação para a produção de sabão.



Fonte: Souza, 2013.

O sabão é um sal de ácido carboxílico e por possuir uma longa cadeia carbônica em sua estrutura molecular é capaz de se solubilizar tanto em meios polares quanto em meios apolares. A parte longa da cadeia é apolar, hidrofóbica e solúvel em óleos e a extremidade da cadeia é polar, hidrofílica e solúvel em água (Figura 3) (SILVA, 2017; OLIVEIRA, 2021).

Figura 3 - Representação de uma molécula de sabão.



Fonte : Oliveira; Silva; Souza, 2021.

3.3 Óleos essenciais

Nas últimas décadas, devido ao aumento da resistência de determinados microrganismos, observou-se um grande interesse no estudo de moléculas antimicrobianas presentes nas plantas. Os óleos essenciais se mostraram eficientes como inibidor do crescimento de diversos microrganismos (CARMO,2008).

Os óleos essenciais podem ser encontrados em várias partes dos vegetais, como por exemplo, raízes, cascas, folhas, sementes e frutos. Os óleos essenciais são compostos naturais e complexos sintetizados durante o metabolismo secundário das plantas e são caracterizados

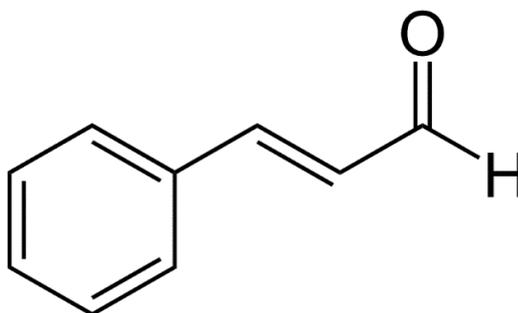
pelo aroma devido a presença de compostos voláteis em sua composição (MACHADO, 2011, p.109). São compostos principalmente por mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos que conferem suas características organolépticas (BIZZO; HOVELL; RESENDE, 2009, p.588). O Brasil é um dos grandes produtores de óleos essenciais, ao lado de países como Índia, China e Indonésia (TONGNUANCHAN, 2014).

Os óleos essenciais são utilizados para diferentes aplicações, como perfumes, aromatizantes de alimentos, aromáticos, tintas, produtos de limpeza, medicamentos e massagens. Por serem compostos por terpenos, também possuem ação antibacteriana, antiviral e anti-inflamatória (PADUCH, 2007; PATRÍCIO, 2021).

3.3.1 Óleo essencial de canela (*Cinnamomum zeylanicum*)

A canela (*Cinnamomum zeylanicum*) é uma especiaria obtida de árvores do gênero *Cinnamomun* (*Lauraceae*), uma planta perene, originária do Sri Lanka (antigo Ceilão), no sul da Ásia (CARRASCO, 2012). Além de seus usos culinários, a canela é utilizada na medicina tradicional como remédio para doenças respiratórias e digestivas, onde quase todas as partes da canela (cascas, frutos, folhas e flores) são utilizadas para fins culinários e medicinais (RANASINGHE, 2013). A presença da molécula de cinamaldeído (Figura 4), que é o composto ativo da canela, confere a suas propriedades organolépticas, possuindo potencial antimicrobiano, anti-inflamatório, antisséptico, angiogênico e cicatrizante (BOTELHO, 2022).

Figura 4 - Molécula de cinamaldeído.



Fonte: TJNchem, 2023.

Apesar do óleo essencial a canela possuir as mesmas propriedades da canela, conferidas pelo cinamaldeído, existem diferenças na composição do óleo dependendo de qual parte da planta o mesmo foi extraído (BOTELHO, 2022). Segundo Torres (2021), o óleo essencial obtido da casca da canela, através de hidrodestilação com um tempo de duas horas, tem em sua

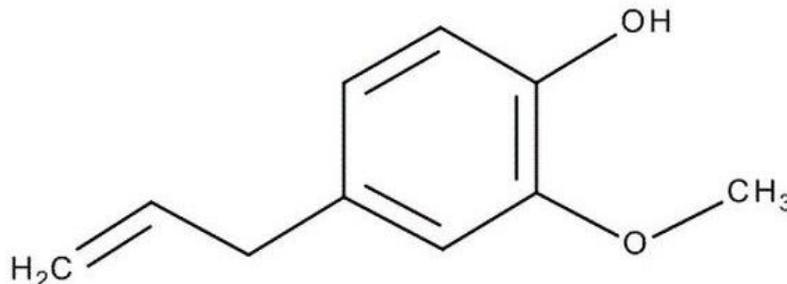
composição química 85,96% de E-cinamaldeído, 7,71% de cumarina e 6,33% de E-o-metoxi-cinamaldeído.

3.3.2 Óleo essencial de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*)

O cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) é uma árvore que pertence à família *Myrtaceae*, tendo um ciclo vegetativo que pode chegar a mais de 100 anos. As folhas são ovais e de coloração verde brilhante, as flores são pequenas e de coloração branco-amareladas e o fruto tem formato alongado e coloração vermelha (RABÊLO, 2010). O cravo-da-índia que é popularmente comercializado, nada mais é do que os botões florais ainda não abertos e que ao passarem por um processo de secagem adquirem uma coloração quase preta (SBFgnosia, 2009).

Segundo a Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009), o óleo de cravo-da-índia contém eugenol (70 a 98%), cariofileno, metil amil acetona, álcool benzílico, ácido eugênico, ácido salicílico e furfurool. O eugenol (Figura 5) é o princípio ativo do cravo-da-índia (OLIVEIRA, 2008).

Figura 5 - Molécula de eugenol.



Fonte: Merck Millipore 1, 2023.

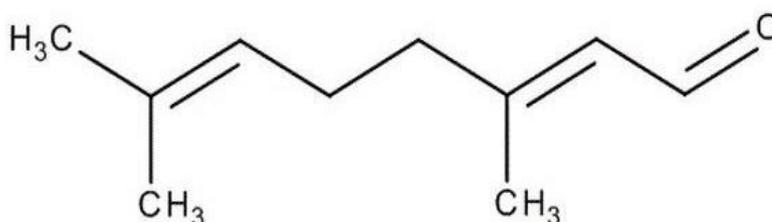
Por se tratar do composto em maior quantidade do óleo essencial de cravo-da-índia, o eugenol é responsável por grande parte dos benefícios associados ao óleo essencial de cravo-da-índia, tendo sido descrito na literatura como o composto ativo responsável pelas atividades antimicrobianas, anti-inflamatória, antioxidante, entre outras (OLIVEIRA, 2008). Dentre as atividades antimicrobianas, destaca-se a ação antifúngica do óleo essencial de cravo-da-índia, devido às características de sua composição, constituída por substâncias de baixo peso molecular e geralmente lipofílicas, permitindo uma alta capacidade de penetração na membrana celular. Estudos já comprovaram a atividade antifúngica de *Syzygium aromaticum* em fungos isolados, como por exemplo *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Aspergillus niger* (AFFONSO, 2012).

3.3.3 Óleo essencial de capim cidreira (*Cymbopogon citratus*)

O capim cidreira (*Cymbopogon citratus*) também conhecido como capim-santo, capim-limão ou capim-cidrão é uma planta herbácea que pertence à família Poaceae, frondosa e robusta, com folhas longas de coloração verde-pálida (GOMES,2003).

O óleo essencial de capim cidreira é composto majoritariamente por citral (sendo citado como sendo responsável pelas atividades atribuídas ao óleo) e em menores quantidades é possível encontrar mirceno em sua composição (SILVA, L., 2016). Segundo Port's (2011), o teor de citral (Figura 6) presente no capim cidreira pode variar de 65 a 80%.

Figura 6 - Molécula de citral.



Fonte: Merck Millipore 2, 2023.

3.4 Extração dos óleos essenciais

A extração de óleos essenciais pode ser feita através de diferentes métodos, onde os mais conhecidos são os métodos de hidrodestilação, destilação por arraste a vapor, extração por solventes orgânicos, extração por fluido supercrítico e prensagem a frio (SILVEIRA,2012).

3.4.1 Hidrodestilação

Na hidrodestilação, a matéria-prima vegetal é imersa sob água e aquecida até a fervura, formando vapores de uma mistura óleo-água, que após serem condensados, transformam-se em uma mistura heterogênea, onde será feita a separação por decantação. Neste método, a composição dos óleos essenciais pode ser influenciada pelo contato com a água, tempo de extração e velocidade de aquecimento (PRINS, 2006). A hidrodestilação pode ser feita utilizando um aparelho de Clevenger (Figura 7).

Figura 7 - Aparelho de destilação Clevenger.



Fonte: Laborquimi, 2023.

3.4.2 Destilação por arraste a vapor

A destilação utilizando vapor de água é uma operação unitária baseada na diferença de volatilidade de determinados compostos presentes na matéria-prima vegetal (STEFFENS, 2010, p.30). No processo de destilação a vapor de água, a água é aquecida e os vapores de água gerados são injetados na coluna de destilação e transpõem o material vegetal extraíndo-se vapores de uma mistura óleo-água que são resfriados no condensador, onde ocorre a liquefação e em seguida é feita a separação do óleo essencial e da água (VALENTIM, 2018).

3.4.3 Extração por solventes orgânicos

A extração por solventes orgânicos consiste em uma técnica onde a matéria-prima vegetal é imersa em um solvente adequado, sendo feita a separação quimicamente, onde posteriormente o solvente é removido através de evaporação ou destilação à pressão reduzida (GALVÃO, 2004). Este método é indicado para extração de óleos que não suportam aumentos de temperatura, sendo comum a utilização dos solventes hexano, metanol e benzeno (SILVA, 2014).

3.4.4 Extração por fluido supercrítico

A extração por fluido supercrítico é baseada no contato da matéria-prima vegetal desidratada e um solvente pressurizado para a obtenção do extrato desejado (MAIA, 2017).

O material a ser extraído é colocado num recipiente cilíndrico com bases porosas, que por sua vez, é colocado na câmara de extração. Seleciona-se a temperatura e a pressão ideais para o material específico a ser extraído e para o produto final desejado. Circula-se o gás supercrítico através do material, na câmara de extração, até dissolver completamente as frações desejadas. Após completar o ciclo de extração, transfere-se a solução para um separador, onde a pressão é mantida abaixo do ponto crítico. Lentamente o gás carbônico torna-se gasoso, perdendo suas propriedades de solvatação, à medida que a pressão diminui. Neste momento, o soluto precipita e é coletado. O dióxido de carbono expandido, em estado gasoso completado em seu volume, circula através de um trocador de calor, é refrigerado, comprimido e liquefeito. Então, o gás é recirculado, no estado líquido, para o aquecedor e pode ser novamente usado nas condições pré-estabelecidas de temperatura e pressão que o recolocam de volta à região supercrítica para extrações sucessivas (MAUL, 1996, p.192).

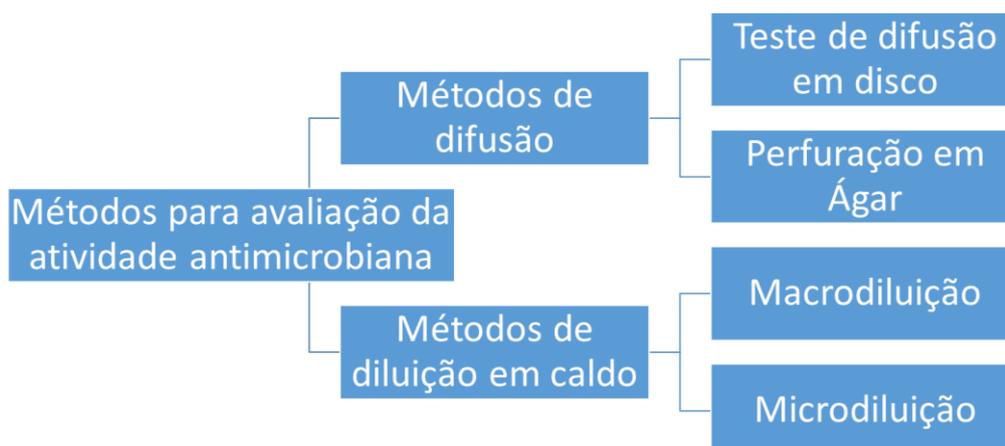
3.4.5 Prensagem a frio

O método de extração de prensagem a frio é usado quando os componentes químicos do óleos essenciais são facilmente danificados pelo calor (SERRANO, 2018). Neste método de extração, que geralmente é utilizado em frutas cítricas, a matéria-prima é colocada em uma prensa hidráulica, sendo extraída uma mistura de suco e óleo, que será separada posteriormente (SILVEIRA, 2012).

3.5 Métodos para avaliar atividade antimicrobiana

Existem vários métodos para avaliar a atividade antimicrobiana, sendo mais conhecidos os métodos de difusão (Teste de difusão em disco e perfuração em ágar) e os métodos de diluição em caldo (Macrodiluição e microdiluição) (Figura 8).

Figura 8 - Fluxograma dos métodos para avaliação da atividade antimicrobiana.



Fonte: Adaptado de Ostrosky et al., 2008.

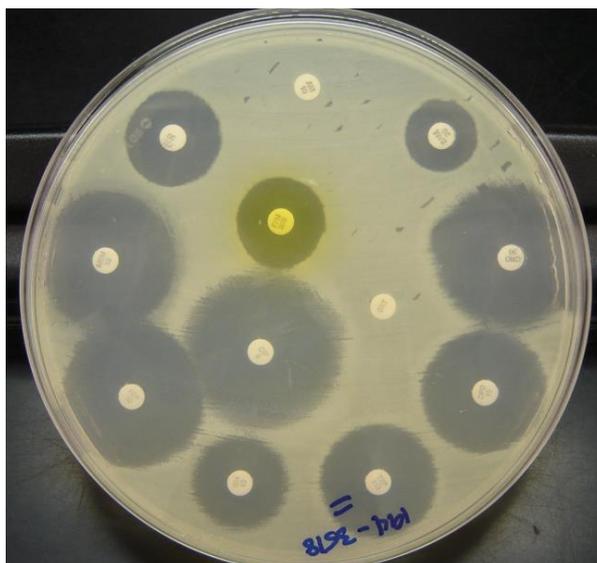
3.5.1 Métodos de difusão

No método de difusão o microrganismo é testado contra uma substância biologicamente ativa em um meio sólido. Os métodos de difusão tem a sua aplicação limitada a microrganismos de crescimento rápido, sendo eles aeróbios ou aeróbios facultativos (OSTROSKY, 2008).

3.5.1.1 Teste de difusão em disco

O teste de difusão em disco é um método simples e barato para avaliar a suscetibilidade bacteriana a diversos antibióticos em um mesmo procedimento. É a principal metodologia utilizada na grande maioria dos laboratórios de microbiologia (INAMINE, 2019, p.18). O teste é realizado através da aplicação de um agente bacteriano inoculado na superfície de uma placa de petri contendo um meio de cultura sólido. Em seguida, discos embebidos com o agente antimicrobiano são inoculados na superfície do ágar e incubados a 35° C por um tempo de 16 a 24 horas (JORGENSEN; FERRARO, 2009, p.1751). A análise dos resultados é feita através do diâmetro das zonas de inibição (halos de inibição) que se formam ao redor dos discos (Figura 9).

Figura 9 - Teste de difusão em disco.



Fonte: Jorgensen; Ferraro, 2009.

3.5.1.2 Perfuração em ágar

Segundo Pereira (2022, p.26097), “a técnica de perfuração em ágar fundamenta-se na remoção do meio de cultura sólido com o auxílio de cilindros de 6-8 mm de diâmetro para a formação de poços, em que é possível aplicação das substâncias a serem analisadas”. Em seguida, as placas são incubadas em uma estufa bacteriológica a 37° C por um período de 24 horas (COSTA, 2016). A análise dos resultados é feita através do diâmetro das zonas de inibição (halos de inibição) que se formam ao redor dos poços.

Lima et al. (2006) fez ensaios de avaliação antifúngica de óleos essenciais das espécies *C. zeylanicum*, *C. limon*, *E. citriodora*, *Eugenia uniflora*, *P. boldus* e *R. offi cinalis*, através do método de perfuração em ágar, onde após o término do período de incubação, a concentração inibitória mínima (CIM) foi considerada aquela que apresentou um halo de inibição do crescimento fúngico igual ou maior que 10,0 mm de diâmetro, onde foi possível determinar que os óleos essenciais por ele utilizados apresentaram halos de inibição igual ou superior a 10,0 mm , caracterizando efetividade na inibição do crescimento fúngico.

3.5.2 Métodos de diluição em caldo

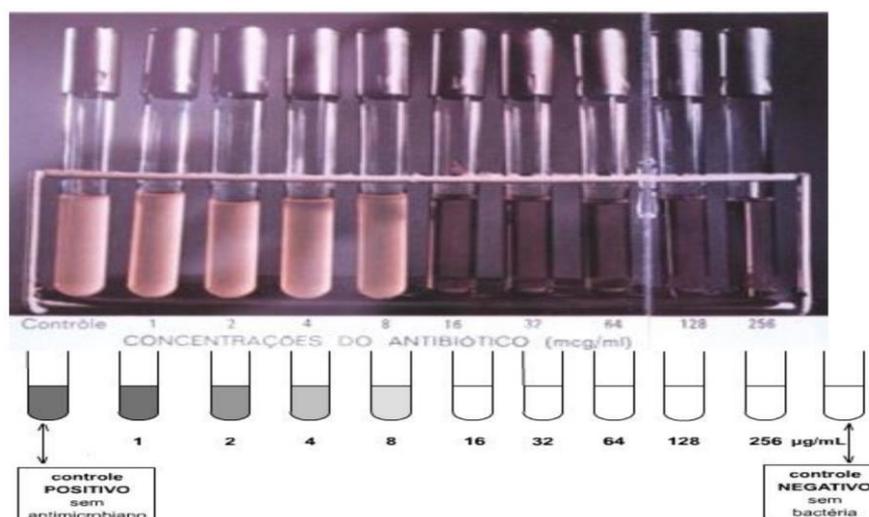
O método de diluição em caldo considera a relação entre a proporção de crescimento do microrganismo no meio líquido e a concentração da substância ensaiada. Envolve a preparação

de diluições seriadas e logarítmicas de antimicrobianos em meio de cultura líquido, onde é possível determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) (JÚNIOR, s.d, p.8). O método fornece resultados quantitativos e não é influenciado pela velocidade de crescimento dos microrganismos. Sua desvantagem é a dificuldade na detecção de contaminação no caso de teste de materiais clínicos (OSTROSKY, 2008, p.303). Para a aplicação do método de diluição podem ser empregadas metodologias de macrodiluição e microdiluição.

3.5.2.1 Macrodiluição

O método de macrodiluição é realizado em tubos de ensaio, com o volume de cultura do meio variando na faixa de 1,0 a 10,0 mL. A substância antimicrobiana, com concentração conhecida, passará por uma diluição seriada, onde as soluções obtidas serão adicionadas em tubos de ensaio, onde será adicionado o microrganismo. A interpretação dos resultados é feita por leitura visual (Figura 10). Por consumir muito tempo, espaço no laboratório e gerar muitos resíduos esse método não é muito utilizado.

Figura 10 - Método de macrodiluição.



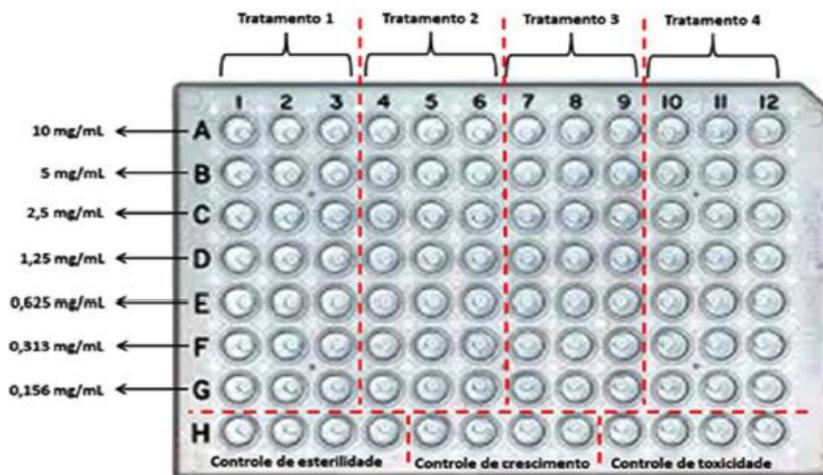
Fonte: JÚNIOR, s.d.

3.5.2.2 Microdiluição

O método de microdiluição é basicamente igual ao método de macrodiluição, sendo feita em menor escala, onde são utilizadas microplacas de 96 poços, também conhecidas como

placas de Elisa (Figura 11), com o volume de meio de cultura entre 0,1 e 0,2 mL e apresenta vantagens em relação a outros métodos, pois tem boa reprodutibilidade, baixo custo, é 30 vezes mais sensível que outros métodos e requer uma pequena quantidade de amostra (OSTROSKY, 2008).

Figura 11 - Exemplo de esquema de uso de placa de 96 poços.



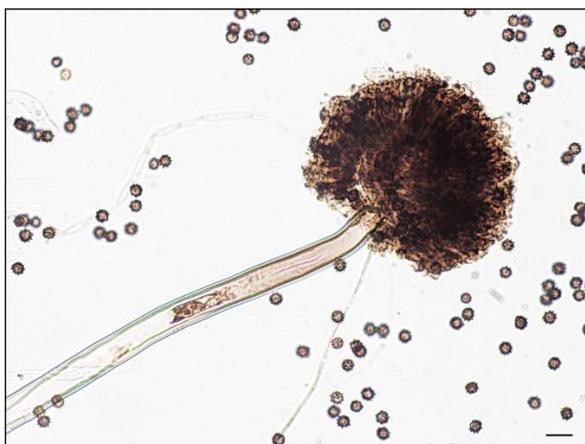
Fonte: Filho et al., 2019.

3.6 Fungo *Aspergillus niger*

Aspergillus niger é um fungo filamentosos pertencente a família trichocomaceae e ao gênero *Aspergillus* (seção *Nigri*), tendo como característica a formação de colônias brancas e possuir hifas finas, septadas e conidióforos com vesículas recobertas por conídios (esporos) negros. O *Aspergillus niger* é um fungo de ocorrência muito comum, podendo ser encontrado em ambientes gelados e úmidos, mas geralmente são encontrados em ambientes quentes e secos. Em condições específicas, o fungo pode causar doenças, como reações alérgicas, irritações e inflamações (INSPQ, 2016; SLIVINSKI, 2007).

O *Aspergillus niger* (Figura 12) tem grande importância econômica, principalmente quando utilizado na indústria farmacêutica, pois tem a capacidade de produzir diversos compostos, como por exemplo, enzimas, vitamina C, ácido cítrico, entre outros (AFONSO, 2015).

Figura 12 - Imagem microscópica do *Aspergillus niger*.

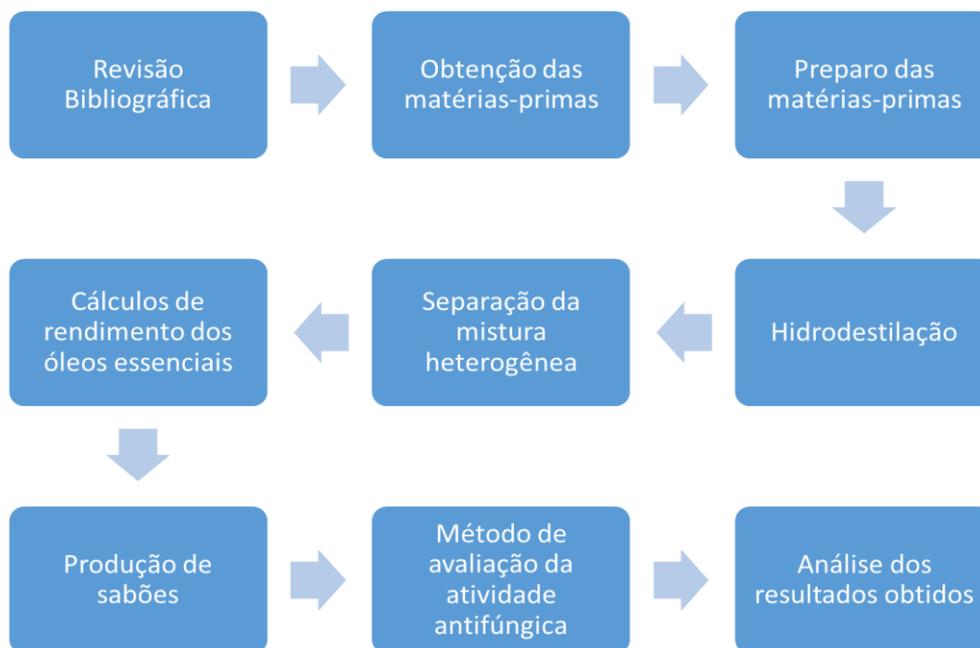


Fonte: INSPQ, 2016.

4 METODOLOGIA

A metodologia utilizada no desenvolvimento do presente trabalho seguiu as etapas apresentadas no fluxograma da Figura 13.

Figura 13 - Fluxograma da metodologia de pesquisa.



Fonte: Autor, 2023.

4.1 Materiais e reagentes

Para a realização do experimento foram utilizados os materiais e reagentes descritos abaixo:

Equipamentos

Os equipamentos utilizados foram: Balança semi-analítica; Manta de aquecimento; Moinho analítico básico; Chapa aquecedora; Autoclave; Capela de exaustão; Estufa bacteriológica.

Instrumentos

Os instrumentos utilizados foram: Béquer de plástico de 250,0 mL; Aparelho de Clevenger; Balão de fundo redondo de 1,0 L; Erlenmeyers de 250,0 mL; Funil de separação de 125,0 mL; Termômetro; Béqueres de plástico de 2,0 L; Peneira; Béqueres de vidro de 250,0

mL; Proveta graduada de 10,0 mL; Placas de petri; Pinça anatômica; Alça de inoculação; Bico de Bunsen.

Reagentes

Os reagentes utilizados foram: Água destilada; Hidróxido de sódio (NaOH); Etanol (C₂H₆O); Meio de cultura MacConkey Agar.

Amostras

As amostras utilizadas foram: Canela em pau (moída); Botões florais secos de cravo-da-índia (moído); Folhas secas de capim-cidreira (moída); óleo vegetal residual; Fungo *Aspergillus niger*.

Outros materiais

Outros materiais que também foram utilizados: Recipientes plásticos; Frascos de vidro âmbar; Papel alumínio; Papel filtro; Papel filme; Paquímetro.

4.2 Métodos

Os métodos empregados para o desenvolvimento e obtenção dos resultados seguiram as seguintes etapas:

1. Obtenção e preparo da matéria-prima

As matérias-primas utilizadas para extração dos óleos essenciais foram obtidas em uma loja de produtos naturais localizada no município de São Miguel dos Campos - AL.

Antes do processo de hidrodestilação as matérias-primas foram preparadas através de moagem, utilizando um moinho analítico básico, com o intuito de facilitar a extração dos óleos essenciais. Em seguida, utilizando uma balança semi-analítica, as amostras utilizadas em cada hidrodestilação foram pesadas.

2. Obtenção de óleos essenciais utilizando o método de hidrodestilação

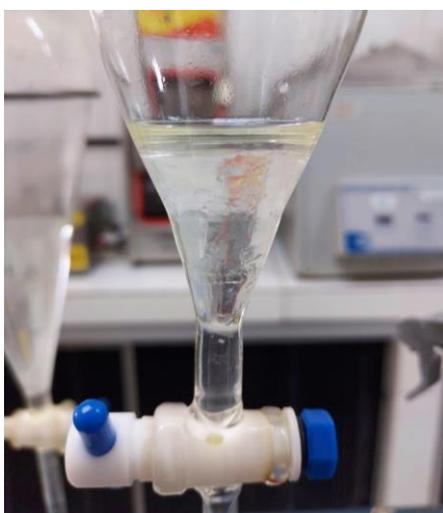
Utilizando o aparelho de Clevenger modificado (Figura 14), a matéria-prima junto com a água destilada foram adicionadas a um balão de fundo redondo, em seguida o balão foi colocado na manta de aquecimento e conectado ao aparelho de Clevenger modificado. A manta foi ligada e após certo tempo o material contido no balão entrou em ebulição, formando vapores da mistura óleo-água, que foram encaminhados ao condensador, onde houve uma diminuição de temperatura, ocorrendo o processo de liquefação. Por fim, o condensado obtido foi colocado em um funil de separação, onde ocorreu uma decantação (Figura 15) e em seguida foi feita a separação do óleo essencial da água.

Figura 14 - Aparelho de Clevenger modificado.



Fonte: Autor, 2023.

Figura 15 - Mistura heterogênea de água e óleo essencial.



Fonte: Autor, 2023.

Cálculo de rendimento

A partir da massa de óleo essencial extraída e da massa total de matéria-prima utilizada nas extrações, foi possível calcular o rendimento dos óleos essenciais pela Equação (1).

$$\text{Rendimento } \left(\% \frac{m}{m}\right) = \frac{M_{\text{óleo}}}{M_T} \times 100 \quad (1)$$

Sendo $M_{\text{óleo}}$ a massa de óleo essencial extraída e M_T a massa total de matéria-prima utilizada na extração.

3. Produção de sabões a partir de óleo de cozinha usado (óleo vegetal) com a adição dos diferentes óleos essenciais obtidos

O sabão foi produzido através da adaptação da metodologia utilizada por Silva, C. (2016), onde 75,0 mL de água foram aquecidos até chegar a temperatura de 40 °C e em seguida foram acrescentados, lentamente, 67,5 g de hidróxido de sódio (NaOH). A solução foi misturada mecanicamente até a completa dissolução do NaOH. Em seguida, 500,0 g do óleo de cozinha usado, previamente filtrado para a retirada de eventuais impurezas, foi adicionado lentamente à solução de NaOH. A solução foi misturada mecanicamente por 20 minutos (Figura 16). Logo após, utilizando três recipientes de plástico, foram transferidos 100,0 g da mistura para cada recipiente. Onde nos recipientes 1 e 2 foram adicionados 4,5 g de óleo essencial de cravo-da-índia e de canela, respectivamente. No recipiente 3 não foi adicionado nenhum tipo de óleo essencial. Por fim, foram adicionados 3,0 mL de álcool em cada um dos três recipientes. As barras de sabão produzidas ficaram armazenadas durante 15 dias antes de serem utilizadas (etapa de cura) nos métodos de avaliação de atividade antifúngica.

Figura 16 - Mistura da solução contendo óleo vegetal usado e NaOH.



Fonte: Autor, 2023.

4. Utilização do método de difusão em disco

O meio de cultura MacConkey Ágar foi preparado seguindo as instruções do fabricante, utilizando 50,0 g do meio de cultura e 1,0 litro de água destilada. O meio de cultura, as placas de petri e a pinça anatômica foram embrulhadas em papel alumínio e foram colocadas no autoclave. Após o autoclave ser ligado, esperou-se que a temperatura no interior do equipamento chegasse a 120 °C, a partir daí foram contabilizados 15 minutos para que o equipamento fosse desligado.

Após o autoclave ser desligado, esperou-se a sua despressurização para poder abri-la e efetuar a retirada dos materiais. Os materiais foram então colocados na capela de exaustão, onde o meio de cultura foi vertido sobre as placas de petri (Figura 17). Após o meio se solidificar o fungo *Aspergillus niger*, obtido no Laboratório de Tecnologia de Bebidas e Alimentos (LTBA), foi inoculado no meio de cultura utilizando uma pinça anatômica.

Figura 17 – Meio de cultura vertido sob as placas de petri.



Fonte: Autor, 2023.

Amostras dos três sabões produzidos foram diluídas em água destilada através de diluição seriada, obtendo as concentrações de 200,0 mg/mL, 100,0 mg/mL, 50,0 mg/mL, 25,0 mg/mL (Figura 18).

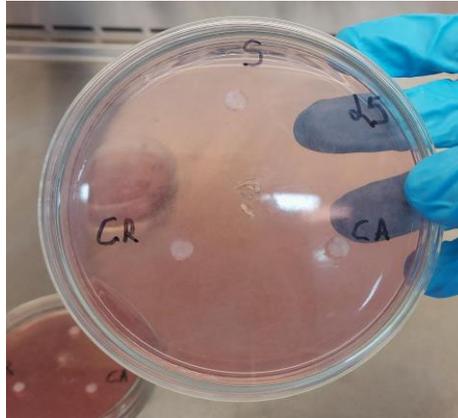
Figura 18 - Diluições seriadas das soluções de sabão.



Fonte: Autor, 2023.

O papel filtro foi cortado em pequenos discos de 6,60 mm de diâmetro (medido com auxílio de um paquímetro), que foram embebidos com as soluções de diferentes concentrações de sabão e os discos foram colocados nas placas de petri (Figura 19), o procedimento foi realizado em triplicata.

Figura 19 - Placa de petri com discos embebidos com as soluções de sabão.



Fonte: Autor, 2023.

Logo após, as placas foram embaladas em plástico filme e colocadas em uma estufa bacteriológica para incubação durante 7 dias.

5. Análise da atividade antifúngica

Após o tempo de incubação, os resultados obtidos foram analisados levando em consideração o crescimento do fungo *Aspergillus niger* e o comportamento dos discos embebidos com as soluções de sabão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A partir do desenvolvimento dos métodos descritos no tópico de metodologia, foi possível extrair os óleos essenciais, utilizá-los para a produção dos sabões e avaliar o potencial antifúngico dos sabões produzidos quando adicionados os óleos essenciais.

5.1 Extração dos óleos essenciais por hidrodestilação

Os testes das extrações de óleos essenciais de canela em pau, cravo-da-índia e capim cidreira foram realizados com base em adaptações das metodologias realizadas por Botelho (2022, p. 4), Rabêlo (2010, p.41-42) e Santos (2009, p. 438), respectivamente. As variáveis utilizadas em cada teste de hidrodestilação podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Dados dos testes de hidrodestilação.

Matéria-prima	Massa (g)	Volume de água destilada (mL)	Nível da manta	Temperatura (° C)	Tempo (h)
Canela em pau (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)	42,268	300,0	5	100,0	2,50
	57,001	400,0	5	100,0	2,50
	50,060	450,0	5	100,0	2,50
	47,100	450,0	5	100,0	2,50
	48,992	450,0	5	100,0	2,00
	60,349	500,0	5	100,0	2,50
	70,058	500,0	5	100,0	2,00
	70,181	500,0	5	100,0	2,50
	49,969	500,0	5	100,0	2,00
	49,554	500,0	5	100,0	2,00
	50,899	500,0	5	100,0	2,50
	50,340	500,0	5	100,0	2,00
	50,054	550,0	4	100,0	2,00
	50,129	500,0	5	100,0	2,00
	43,545	500,0	4	100,0	2,50
	43,967	550,0	4	100,0	2,50
Cravo-da-índia (<i>Syzygium aromaticum</i>)	71,451	450,0	5	100,0	4,00
	40,511	400,0	5	100,0	2,50
	58,646	500,0	5	100,0	3,00
	75,282	500,0	5	100,0	4,00
	75,100	500,0	5	100,0	3,25
	75,054	550,0	5	100,0	4,00
Capim cidreira (<i>Cymbopogon citratus</i>)	63,056	550,0	5	100,0	4,00
	71,265	400,0	7	100,0	2,50
	75,013	400,0	8	100,0	3,00
	75,355	400,0	8	100,0	3,50

Fonte: Autor, 2023.

A massa de óleo essencial de canela em pau obtida foi de 6,90 g e a massa total da matéria-prima de canela em pau utilizada para as extrações foi de 834,47 g, logo, através da Equação (1) foi possível calcular o rendimento do óleo essencial de canela em pau, obtendo um

rendimento de 0,83 % (m/m) (Tabela 2). Segundo Torres (2021) os rendimentos da extração de óleo essencial de canela, utilizando diferentes métodos (destilação por arraste a vapor, hidrodestilação e extração em Soxhlet com solventes orgânicos), variam de 0,4% a 2,5%, logo a extração de óleo essencial de canela obteve resultados dentro do esperado. Foi possível observar também as características do óleo essencial de canela, um líquido com coloração amarelo dourado e odor característico.

A massa de óleo essencial de cravo da índia obtida foi de 17,02 g e a massa total da matéria-prima de cravo-da-índia utilizada para as extrações foi de 459,10 g, logo, através da Equação (1) foi possível calcular o rendimento do óleo essencial de obtendo um rendimento de 3,71 % (m/m) (Tabela 2). Ao comparar resultados, viu-se que Rabêlo (2010) e Wenqiang (2007) encontraram, respectivamente, um rendimento de 3,54 % (m/m) e 11,50 % (m/m) na extração do óleo essencial de cravo-da-índia. Segundo Oliveira (2009) os rendimentos de óleos essenciais da espécie *Syzygium aromaticum*, utilizando o método de hidrodestilação, variam de 2,30 % a 15,40 %. Logo, o rendimento para extração de óleo essencial de cravo-da-índia obteve resultados dentro do esperado.

A Figura 20 mostra as fases formadas na mistura heterogênea de água e óleo essencial de cravo-da-índia, cuja a aparência do óleo essencial é um líquido transparente com coloração levemente amarelada e odor característico.

Figura 20 - Mistura heterogênea de água e óleo essencial de cravo-da-índia.

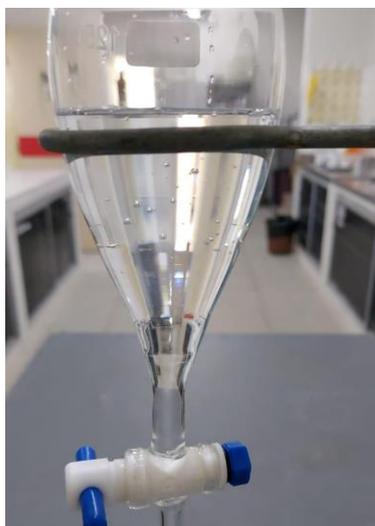


Fonte: Autor, 2023.

Para extração do óleo essencial de capim cidreira foram utilizados 221,63 g de matéria-prima, mas as extrações não obtiveram os resultados esperados (Tabela 2), já que não era visível a formação da duas fases nos destilados, uma fase de óleo e outra de hidrolato (água condensada

após a hidrodestilação) (Figura 21). Segundo Maus (2020) o rendimento da extração do óleo essencial de capim-cidreira é de 0,09% (m/v) e como a extração foi feita em pequena escala, não foi possível obter o óleo essencial de capim-cidreira e conseqüentemente, não foi possível produzir o sabão com esse óleo essencial.

Figura 21 - Hidrolato capim cidreira.



Fonte: Autor, 2023.

Tabela 2 – Tabela de rendimento dos óleos essenciais.

Matéria-prima	Massa (g)	Massa óleo essencial (g)	Rendimento (%)
Canela (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)	834,47	6,90	0,83
Cravo-da-índia (<i>Syzygium aromaticum</i>)	459,10	17,02	3,71
Capim cidreira (<i>Cymbopogon citratus</i>)	221,63	0,00	0,00

Fonte: Autor, 2023.

5.2 Barras de sabão

Analisando a Figura 22, é possível observar que a adição dos óleos essenciais ao sabão promoveu uma alteração na coloração dos mesmos, onde o sabão sem a adição de óleo essencial (Figura 22 (a)) obteve uma coloração amarelo claro, o sabão com a adição de óleo essencial de cravo-da-índia (Figura 22 (b)) também obteve coloração amarelo, mas em um tom mais escuro,

já o sabão com a adição de óleo essencial de canela (Figura 22 (c)) obteve uma coloração alaranjada. Foi possível observar também que a adição dos óleos essenciais trouxe aos sabões um aspecto mais oleoso e com melhor aparência após a retirada da forma.

Figura 22 - Barras de sabão produzidas.

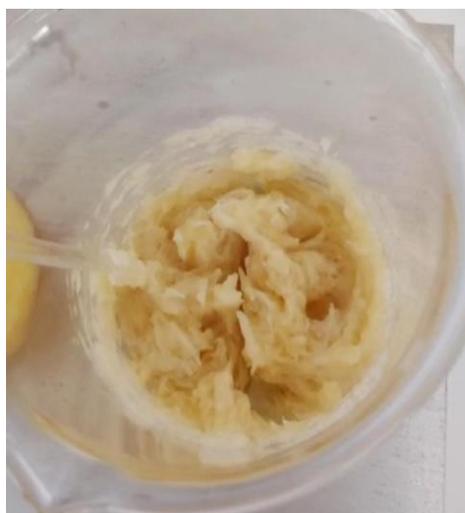
(a) Sem óleo essencial. (b) Com óleo essencial de cravo. (c) Com óleo essencial de canela.



Fonte: Autor, 2023.

As barras de sabão foram diluídas a uma concentração de 200,0 mg/mL, onde em seguida foram feitas diluições seriadas para obtenção de concentrações iguais a 100,0 mg/mL, 50,0 mg/mL, 25,0 mg/mL. Antes da obtenção da solução de sabão com concentração de 200,0 mg/mL, foram feitas tentativas de soluções com concentrações mais elevadas, onde buscou-se obter uma soluções com concentrações de 600,0 mg/mL e 400,0 mg/mL (Figura 23). Como não foi possível diluir o sabão a essas concentrações, foi feita a diluição com concentração de 200,0 mg/mL.

Figura 23 - Tentativa de solução de sabão com concentração de 400,0 mg/mL.



Fonte: Autor, 2023.

5.3 Potencial antifúngico

As diluições obtidas foram utilizadas para embeber os discos de papel filtro e aplicá-los no meio de cultura já inoculado. Após a incubação foi possível avaliar o potencial das diluições de sabão como agente antifúngico, analisando o comportamento dos discos de papel filtro embebidos com as diluições de sabão e o crescimento do fungo *Aspergillus niger* nas placas de petri (Figuras 24 a 28).

Figura 24 - Discos com concentração de 200,0 mg/mL.



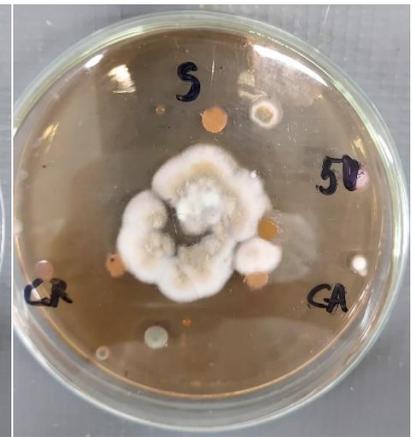
Fonte: Autor, 2023.

Figura 25 - Discos com concentração de 100,0 mg/mL.



Fonte: Autor, 2023.

Figura 26 - Discos com concentração de 50,0 mg/mL.



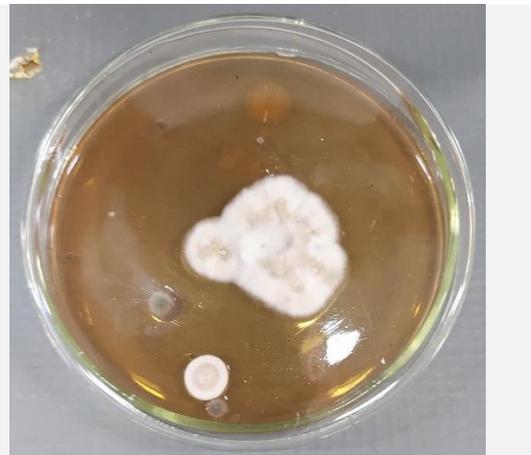
Fonte: Autor, 2023.

Figura 27 - Discos com concentração de 25,0 mg/mL.



Fonte: Autor, 2023.

Figura 28 - Placa sem os discos embebidos de sabão.



Fonte: Autor, 2023.

Ao analisar as Figuras 23 a 27 é possível observar que não houve inibição, ou seja, não houve formação de halos de inibição e o fungo chegou a crescer em cima de alguns dos discos embebidos.

Diversos autores já realizaram experimentos avaliando a atividade antifúngica dos óleos essenciais de canela e cravo-da-índia e obtiveram resultados promissores. Takemoto (2013), analisou a atividade antifúngica dos óleos essenciais de canela, cravo-da-índia, orégano, manjerição e capim cidreira frente ao fungo *Aspergillus flavus Link*, onde os óleos essenciais de canela, cravo-da-índia e capim cidreira apresentaram bons resultados de inibição, obtendo concentrações inibitórias mínimas (CIM) de 200,0 µg/mL , 600,0 µg/mL e 700,0 µg/mL, respectivamente.

Carmo (2008) analisou o efeito do óleo essencial de *Cinnamomum zeylanicum* no crescimento de algumas espécies de *Aspergillus* potencialmente patogênicas, dentre as espécies estudadas estava o *Aspergillus niger*, onde a concentração inibitória mínima (CIM) foi de 80,0 µL/mL, formando halos de inibição com diâmetros entre 12,0 e 15,0 mm.

Lima (2021) analisou a atividade antifúngica do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* frente ao *Aspergillus niger* e obteve concentração inibitória mínima (CIM) de 100,0 µg/mL. Já quando o óleo foi usado para preparar nanoemulsões (5% de óleo essencial, 10% de Tween 20 (emulsificador) e 85% de água) a concentração inibitória mínima (CIM) foi de 25,0 µg/mL.

Alguns fatores podem ter impedido a atividade antifúngica dos sabões frente ao fungo *Aspergillus niger*, como por exemplo a concentração de óleo essencial nas soluções de sabão que pode ter sido baixa, o que pode impedir de se alcançar a concentração mínima para inibir o crescimento do fungo. Outro fator que pode ter influenciado é o próprio sabão, pode ter inibido a atividade antifúngica dos óleos essenciais. Um terceiro fator é o método utilizado para avaliar a atividade antifúngica, onde há a possibilidade de que métodos de diluição em caldo obtivessem resultados mais satisfatórios.

6 CONCLUSÃO

O presente trabalho buscou analisar o potencial antifúngico de sabões produzidos com óleo vegetal residual e utilizando diferentes óleos essenciais como aditivo. Os óleos essenciais foram obtidos utilizando o método de hidrodestilação, onde não houve êxito na extração do óleo essencial de capim cidreira, devido ao baixo rendimento, sendo possível a extração dos óleos essenciais de canela e cravo-da-índia, que obtiveram rendimentos dentro do esperado pela literatura.

As barras de sabão foram produzidas utilizando óleo de cozinha usado com adição de óleos essenciais, onde os óleos essenciais foram incorporados como aditivo. O sabão ficou armazenado durante 15 dias devido à etapa de cura. Após esse período, as barras de sabão foram diluídas em concentrações diferentes, através de diluições seriadas, que foram testadas frente ao fungo *Aspergillus niger*, utilizando o método de difusão em disco. Como não houve a formação de halos de inibição, não foi possível atestar a atividade antifúngica do sabão, nem determinar qual óleo essencial tem a melhor eficácia como agente antifúngico quando utilizado como aditivo no sabão.

Apesar do sabão não ter demonstrado potencial antifúngico quando aditivados com óleos essenciais, os objetivos do trabalho foram alcançados, já que foi possível aplicar os métodos de hidrodestilação, produzir os sabões com óleos essenciais e aplicar atividades microbiológicas através dos métodos de difusão em disco.

7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

Para trabalhos futuros, deixo como sugestão a utilização de quantidades maiores de óleos essenciais para produzir os sabões e que sejam feitas análises estatísticas e testes de qualidade dos sabões produzidos. Além disso, empregar métodos de diluição em caldo para avaliar a atividade antifúngica do sabão, sendo possível também determinar a concentração inibitória mínima (CIM).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFFONSO, R. S. et al. **Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia**. Revista Virtual de Química, v.4, n.2, p. 146-161, 2012.
- AFONSO, S. O. M. **Aspergillus niger: Sua utilização na indústria farmacêutica**. Dissertação de mestrado. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, 2015.
- ARAÚJO, R. J. C. et al. **Reação de saponificação: Ensino da química contextualizada e experimental no estudo de lipídios**. V Congresso Nacional de Educação(CONEDU), 2018.
- ASCENÇÃO, V. L.; FILHO, V. E. M. **Extração, caracterização química e atividade antifúngica de óleo essencial *Syzygium aromaticum* (cravo da Índia)**. Cad. Pesq., São Luís, v. 20, n. especial, 2013.
- BIZZO, H. R.; HOVELL, A. M.; REZENDE, C. M. **Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas**. Quim. Nova, Vol. 32, 2009.
- BOTELHO, A. B. M; ARAUJO, R. M. **Análise cromatográfica do óleo essencial extraído da canela comercial**. Revista Científica Multidisciplinar (RECIMA21) , v. 3, n. 6, 2022.
- CARMO, E. S. et al. **Effect of cinnamomum zeylanicum blume essential oil on the growth and morphogenesis of some potentially pathogenic aspergillus species**. Brazilian Journal of Microbiology, p. 91-97, 2008.
- CARRASCO, S. **Canela: O doce cheiro**. Sabor & Saber. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, 2012. Disponível em: <https://www5.pucsp.br/maturidades/sabor_saber/index-53.html#:~:text=Caneleira%20C3%A9%20o%20nome%20de,Ceil%20C3%A3o%20no%20sul%20da%20C3%81sia.>. Acesso em: 12 de março de 2023.
- CASSARO, C; BRASIL, G; ALMEIDA, F. A. B. **Estudo e análise da destinação do óleo de cozinha e coleta nos empreendimentos turísticos de Foz do Iguaçu**. Festival do turismo das cataratas do Iguaçu. Foz do Iguaçu, 2012.
- COSTA, G. M. B. A. **Avaliação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos e de óleo essencial de alecrim do campo (*Baccharis dracunculifolia*)**. Universidade de Brasília , Brasília - DF, 2016.
- ECÓLEO (Associação Brasileira para Sensibilização, Coleta e Reciclagem de Resíduos de Óleo Comestível). **Reciclagem**. Disponível em: <<https://ecoleo.org.br/projetos/6766-2/>>. Acesso em: 05 de março de 2023.
- FILHO, L. G. A. S. et al. **Deteção da atividade antibacteriana in vitro de compostos naturais à base de plantas: metodologia científica**. Comunicado técnico. Embrapa, Teresina-PI, 2019.

GALVÃO, E. L. **Extração do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* J. com CO₂ pressurizado**. Dissertação de mestrado. Programa de pós-graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal – RN, 2004.

GOMES, E. C. **CAPIM-LIMÃO - *Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf: SUBSÍDIOS PARA MELHORIA DE QUALIDADE DO CULTIVO, INDUSTRIALIZAÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO NO ESTADO DO PARANÁ**. Tese de pós-graduação. Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, 2003.

INAMINE, E. **Avaliação de um método simplificado de crescimento relativo por maldi-tofs para determinação da suscetibilidade de enterobacteriales à polimixina B**. Programa de pós-graduação em medicina. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 2019.

Instituto Nacional de Saúde Pública de Québec (INSPQ). **Aspergillus niger**. Québec, 2016. Disponível em: < <https://www.inspq.qc.ca/es/node/484>>. Acesso em : 27 de abril de 2023.

JORGENSEN, J. H.; FERRARO, M. J. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. **MEDICAL MICROBIOLOGY**, 2009.

JUNIOR, A. F. **Determinação de sensibilidade bacteriana aos antimicrobianos**. Departamento de microbiologia e imunologia. Instituto de biociências de Botucatu - UNESP.

LÁSLÓ, F. **Capins na Aromaterapia Capim cidreira, limão e gengibre, palmarosa, jamrosa, citronela**. Disponível em: <[LIMA, I. O. et al. **Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de Candida**. Revista Brasileira de Farmacognosia, p.197-201, 2006.](http://www.jardimdeflores.com.br/capins_na_aromoterapia.htm#:~:text=O%20capim%2Dlim%C3%A3o%20(Cymbopogon%20flexuosus)%20de%2065%2D85%25.>>. Acesso em: 08 de abril de 2023.</p></div><div data-bbox=)

LOPES, N. P.; MELLO J. C. P.; SOUZA, G. H. B. **Farmacognosia: Coletânea Científica**. Editora UFOP. Ouro Preto, 2011.

MACHADO, B. F. M. T. ; JUNIOR, A. F. **Óleos essenciais: Aspectos gerais e usos em terapias naturais**.

MAIA, J. D.; ALICIEO. T. V. R. **Extração supercrítica aplicada a frutas - Revisão**. Revista Inova Ciência & Tecnologia, Uberaba, p. 36-48, v. 3, n. 2, 2017.

MAUS, D. et al. **Avaliação do rendimento de extração de óleo essencial de capim-cidreira (*Cymbopogon Citratus*) fresco e congelado**. Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 - Anais do XI Congresso Brasileiro de Agroecologia, São Cristóvão, Sergipe - v. 15, n.2, 2020.

MAUL, A. A.; WASICKY, R.; BACCHI, E. M. **Extração por fluido supercrítico**. Revista brasileira de farmacognosia. São Paulo, 1996.

MERCK MILLIPORE 1. **Eugenol.** Disponível em: <https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/Eugenol,MDA_CHEM-818455> Acesso em: 06 de abril de 2023.

MERCK MILLIPORE 2. **Citral.** Disponível em: <https://www.merckmillipore.com/BR/pt/product/Citral,MDA_CHEM-802489> Acesso em: 06 de abril de 2023.

MORGAN-MARTINS, M. I. et al. **Reciclo-óleo: do óleo de cozinha ao sabão ecológico, um projeto de educação ambiental.** Cinergis, Santa Cruz do Sul, v. 17, n. 4, 2016.

NASCIMENTO, I. B. et al. **Influência do horário de corte na produção de óleo essencial de capim-santo (*andropogum sp*).** Revista Caatinga, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Brasil, v. 19, n. 2, p. 123-127, 2006.

OLIVEIRA, F. A. et al. **Desenvolvimento de uma formulação farmacêutica com propriedade antifúngica utilizando óleo essencial de cravo.** XII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VIII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, 2008.

OLIVEIRA, J. J. S; SILVA, M. B; SOUZA, V. S. **PRODUÇÃO DE SABÃO CASEIRO: Uma proposta economicamente viável e ambientalmente amigável.** Instituto Federal Baiano, Santa Inês - BA, 2021.

OLIVEIRA, R. A. et al. **Constituintes químicos voláteis de especiarias ricas em eugenol.** Revista Brasileira de Farmacognosia, 2009.

OSTROSKY, E. A. et al. **Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais.** Revista Brasileira de Farmacognosia. São Paulo, 2008.

PADUCH, R. et al. **Terpenes: substances useful in human healthcare.** Arch. Immunol. Ther. Exp., p. 315–327, 2007.

PATRÍCIO, R. S. G. **Óleos essenciais: aplicações, benefícios e cuidados.** 2021. Disponível em:<https://blog.nutrify.com.br/oleos-essenciais-beneficios-cuidados#:~:text=Os%20C3%B3leos%20essenciais%20s%C3%A3o%20uma,de%20limpez a%2C%20medicamentos%20e%20massagens>. Acesso em 09 de abril de 2023.

PEREIRA, A. A. **Efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de bactérias e fungos.** Programa de Pós-graduação “Stricto Sensu” em Ciência dos Alimentos. Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, 2006.

PEREIRA, A. A. et al. **Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.** Ciênc. agrotec., Lavras-MG, v. 32, n. 3, p. 887-893, 2008.

PEREIRA, M. D. S. V. et al. **Estudo sobre métodos utilizados para a determinação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas medicinais: elucidações e limitações das técnicas.** Brazilian Journal of Development, Curitiba, v.8, n.4, p.26085-26104, 2022.

PORT'S, P. D. S. **Compostos fenólicos e potencial antioxidante de ervas consumidas na região amazônica brasileira.** Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Federal de Campinas, Campinas-SP, 2011.

PRINS, C. L.; LEMOS, C. S. L. ; FREITAS, S. P. **Efeito do tempo de extração sobre a composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*).** Rev. Bras. Pl. Med, Botucatu, v.8, n.4, p.92-95, 2006.

RABÊLO, W. F. **Caracterização química, toxicidade e avaliação da atividade antibacteriana do óleo essencial do cravo da índia (*Syzygium aromaticum*).** Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2010.

RANASINGHE, P. et al. **Medicinal properties of 'true' cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*): a systematic review.** BMC Complementary and Alternative Medicine, 2013.

SABESP (Companhia de Saneamento Básico do Estado de São Paulo). **Água e óleo não se misturam.** Governo do Estado de São Paulo, São Paulo – SP, 2021.

SANTOS, A. et al. **Determinação do rendimento e atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (DC.) Staph em função de sazonalidade e consorciamento.** Revista Brasileira de Farmacognosia, p. 436-441, 2009.

SBFgnosia (Sociedade Brasileira de Farmacognosia). **Histoquímica do cravo.** Apostila de Aula Prática de Farmacognosia UFBA, 2009. Disponível em: <http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/histoquimica_do_cravo.html#:~:text=O%20%C3%B3leo%20de%20cravo%2Dda,que%20hoje%20na%20medicina%20popular>. Acesso em: 26 de março de 2023.

SEJAS, L. M. et. al. **Avaliação da qualidade dos discos com antimicrobianos para testes de disco-difusão disponíveis comercialmente no Brasil.** Jornal brasileiro de patologia e medicina laboratorial. Rio de Janeiro, v.39, n.1, p. 27-35, 2003.

SERRANO, C.; FIGUEIREDO, A. C. **Métodos de obtenção dos óleos essenciais e outros extratos.** Plantas aromáticas. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária. Silva Lusitana, p. 83-92, Portugal, 2018.

SILVA, A. M. N. **Gestão do óleo vegetal residual de fritura visando a sustentabilidade.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Sergipe. São Cristóvão - SE, 2013.

SILVA, C. S. et al. **Oficina de produção de sabão com óleo usado de cozinha: Conscientização ambiental no interior de Goiás.** Revista Tecnia. v. 1, n.1, 2016.

SILVA, J. C. **Extração do óleo essencial do rubim (*Leonurus sibiricus L.*) e aplicação em creme.** Fundação Educacional do Município de Assis - FEMA - Assis, 2014.

SILVA, L. G. et al. **Ação socioambiental e científica: Produção de sabão e derivados de limpeza a partir do óleo residual.** Revista eletrônica Estácio, Recife, 2017.

SILVA, L. P.; RECK, R. T.; FONSECA, F. N. **Desenvolvimento de fórmulas farmacêuticas semissólidas a partir de capim-limão.** Saúde Meio Ambient. v. 5, n. 2, p. 82-92, 2016.

SILVEIRA, J. C. et al. **Levantamento e análise de métodos de extração de óleos essenciais.** Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v.8, n.15, 2012.

SLIVINSKI, C. T. **Produção, purificação parcial e caracterização bioquímica de glucoamilase de *Aspergillus niger* obtida por fermentação em estado sólido.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Ponta Grossa, Ponta Grossa - PR, 2007.

SOUZA, R. F. **Fabricação de sabão ecológico a partir de óleos de fritura no município de Piranhas-AL.** Instituto Federal de Alagoas - IFAL, Campus Piranhas, Piranhas-AL, 2013.

STEFFENS, A. H. **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtido por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial.** Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

TAKEMOTO, J. A.; GORAYEB, T. C. C.; THOMEO, J. C. **Atividade antifúngica dos óleos essenciais de canela, cravo-da-índia, orégano, manjerição e capim cidreira frente ao *Aspergillus flavus* Link.** Anais eletrônicos, Campinas, 2013. Disponível em: <<https://proceedings.science/slaca/slaca-2013/trabalhos/atividade-antifungica-dos-oleos-essenciais-de-canela-cravo-da-india-oregano-manj?lang=pt-br#>>. Acesso em: 02 Maio. 2023.

TESCAROLLO, I. L. et al. **Proposta para avaliação da qualidade de sabão ecológico produzido a partir do óleo vegetal residual.** Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental (REGET). Santa Maria, v. 19, n. 3, 2015.

TNJchem. **Cinamaldeído.** Disponível em: <https://pt.tnjchem.com/cinnamaldehyde-cas-104-55-2_p446.html>. Acesso em: 04 de maio de 2023.

TOMASI, K. et al. **Perfil de consumo e descarte de óleo comestível no município de Ijuí-RS.** Revista Contexto & Saúde. Editora Unijuí. v.14, n.27, 2014.

TONGNUANCHAN, P. e BENJAKUL, S. **Essential oils:extraction, bioactivities, and their uses for food preservation.** Journal of Food Science, 2014.

TORRES, A. V.; SIMÕES, J. B. **Extração do óleo essencial da canela em casca em sistemas aquosos e orgânicos visando a obtenção de cinamaldeído.** Trabalhos nas áreas de fronteira da química 2, Atena Editora, capítulo 3, p.24-33, 2021.

VALENTIM, J. A.; SOARES, E. C. **Extração de Óleos Essenciais por Arraste a Vapor: Um Kit Experimental para o Ensino de Química.** Quím. nova esc. São Paulo, 2018.

VEIGA, A. **Padronização e validação de método de microdiluição para determinação da concentração inibitória mínima de compostos antimicrobianos.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

WENQIANG, G. et al. **Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods.** Food Chemistry 101, p. 1558–1564, 2007.

WILDNER, L. B. A.; HILLIG, C. **Reciclagem de óleo comestível e fabricação de sabão como instrumento de educação ambiental.** Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental REGET/UFSM, v.5, n.5, p. 813 - 824, 2012.