

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS ETANÓLICOS DE FRUTOS DA FAMÍLIA MYRTACEAE

ANDRESSA SALIES SOUZA¹; IVANDRA IGNES DE SANTI²; IGOR FRANZ
SANTA BARBARA³; MIRIAN RIBEIRO GALVAO MACHADO⁴; ROGÉRIO
ANTONIO FREITAG⁴

¹ Química de Alimentos - Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos,
Universidade Federal de Pelotas – andressasalies20@gmail.com

² Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Universidade Federal de Pelotas
– ivandra.santi@yahoo.com.br

³ Química Forense - Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade
Federal de Pelotas – igorfranzsb@gmail.com

⁴ Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas –
miriangalvao@gmail.com; rafreitag@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Dentre as famílias botânicas que apresentam maior quantidade de elementos voláteis, destaca-se a família Myrtaceae, que contém centenas de gêneros e cerca de 3.500 espécies distribuídas por todo o mundo, preferencialmente nas zonas tropicais e subtropicais da América e Austrália. (STIEVEN; MOREIRA; SILVA, 2009). Muitas espécies deste gênero se destacam pela produção de frutos de valor nutritivo, além de algumas serem utilizadas na medicina popular (SILVA; TAKEMURA et al., 2015). Dentro dessa família encontram-se as espécies *Myrcianthes pungens*, *Eugenia pyriformis Cambess* e *Campomanezia guazumifolia* conhecidas popularmente como Guabiju, Uvaia e Sete Capotes, respectivamente.

O avanço da ciência farmacêutica levou ao surgimento de diversos antimicrobianos, com espectro de ação cada vez mais amplo. Pesquisas com plantas têm comprovado seu potencial antimicrobiano no tratamento de várias doenças infecciosas, estas, quando tratadas com plantas medicinais, apresentam diminuição de efeitos colaterais, quando comparados com antimicrobianos sintéticos (NESELLO et al., 2017)

Segundo o mesmo autor devido à crescente dificuldade de combater microrganismos resistentes a antimicrobianos, o potencial antimicrobiano de algumas plantas tem despertado o interesse de pesquisadores por serem uma alternativa natural, e pelas potencialidades consagradas. Portanto o presente trabalho teve como objetivo realizar a análise antimicrobiana dos extratos etanólicos dos frutos, através do método de difusão em disco.

2. METODOLOGIA

2.1 Matéria Vegetal

Os frutos foram coletados na região noroeste do estado do Rio Grande do Sul em coordenadas geográficas S 28°25'36" 43" WO 51°52'47" 90". Os mesmos foram secos em estufa com circulação de ar em uma temperatura de 37°C e pulverizadas em moinhos de facas. Uma exsicata das plantas *Myrcianthes pungens*, *Campomanezia guazumifolia* e *Eugenia pyriformis* foi encaminhada para o Herbário da Engenharia Florestal da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) identificado e catalogado sob o número HDCF 7523, HDCF 7524 e HDCF 7525, respectivamente.

2.2 Extração Etanólica

Para a obtenção dos extratos etanólicos pesou-se 25g de cada amostra previamente pulverizada e acondicionado em um Erlenmeyer e a seguir adicionou-se 250mL de etanol PA. Para a extração foi utilizado um ultrassom a temperatura de 60°C por um período de 60 minutos. Ao término da extração, o extrato foi filtrado e o solvente foi evaporado em aparelho Rota evaporador. O extrato etanólico foi armazenado em frasco hermeticamente fechado e conservado a – 4°C para posteriormente serem realizadas as análises.

2.3 Ensaios de Atividade Antimicrobiana

Para determinar a atividade antimicrobiana, utilizou-se o método de difusão em disco. O teste foi realizados em duplicatas e repetido. Para o controle positivo foi utilizada antibióticos Gram + e Gram - e controle negativo foi utilizado dimetilsulfóxido (DMSO).

2.4 Microrganismos

As bactérias utilizadas nesse estudo foram *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 43895 e *Staphylococcus aureus* ATCC 10232. As cepas alvo foram mantidas em ágar Mueller-Hinton a 4°C e reativada posteriormente ao seu uso.

2.4 Preparação do Inóculo

Em um tubo de ensaio, contendo solução salina 0, 85% preparou-se suspensões das cepas de teste padronizadas de acordo com a escala de Mac Farland 0.5, correspondendo aproximadamente à concentração de 10^8 Unidades Formadoras de Colônias (UFC / mL). Para padronizar a densidade óptica do inóculo foi lido em um espectrofotômetro em um comprimento de onda $\lambda = 625\text{nm}$ em uma absorbância de 0,08 - 0,10

2.5 Método de Difusão em Disco

Os extratos etanólicos, após evaporação, foram dissolvidos em DMSO nas concentrações de 500mg / mL, 200mg / mL e 100mg / mL. Em placas de Petry contendo as culturas semeadas em Agar Mueller Hinton com o auxílio de um cotonete estéril, foram espalhados em todas as direções cobrindo toda a superfície. Um disco esterilizado foi fixado (6mm) na superfície do meio inoculado. Em seguida, aplicamos 7 μL das amostras com diferentes concentrações. As placas foram inoculadas a 37 ° C em incubadora microbiológica por 18 a 24 horas. Os diâmetros das zonas de inibição foram medidos em milímetros com o auxílio de um paquímetro.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A susceptibilidade antimicrobiana dos extratos etanólicos foram avaliadas pelo método de difusão em disco frente as bactérias *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella*. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultados de Disco Difusão dos extratos dos frutos das plantas Guabiju, Uvaia e Sete Capotes.

Extratos	C. mg/mL	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		Sal	
ETOH SC	500	7,0	7,8	11,4	10,2	9,4	11,0
	200	6,1	6,1	7,4	6,8	-	-
	100	-	-	-	-	-	-
ETOH Uv	500	-	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-	-
ETOH G	500		-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-	-
	100	-	-	-	-	-	-
DMSO		-	-	-	-	-	-
AMO 30		22,0	21,6			24,6	24,0
SUT 25		29,8	30,3			21,6	22,5
Tet 30				26,4	26,9		
Pen 10				10,0	10,0		

O extrato etanólico da casca e polpa do fruto Sete Capotes apresentou atividade antimicrobiana frente as bactérias *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella*. Já os extratos dos frutos Guabiju e Uvaia avaliados neste trabalho não apresentaram potencial antimicrobiano nas concentrações testadas, para as bactérias utilizadas no mesmo, não se mostrando sensível ao extrato. O controle negativo DMSO não apresentou inibição em todas as bactérias testados, indicando que o mesmo não interferiu em nossos extratos.

Trabalhos relacionados a atividade bacteriana da planta Sete Capotes não foram encontrados. Resultado referente ao Guabiju e Uvaia os autores (SILVA; TAKEMURA et al., 2015) utilizaram extratos de folhas de Uvaia e não apresentaram atividade antimicrobiana para as bactérias *S. aureus* e *E. coli*. A resistência da bactéria *E. coli* foi evidenciada em outras espécies da família Myrtaceae, como: *E. mansonii*, *E. malaccensis*, *Myrtus communis* e *Psidium guajava*. Apesar disto, todas estas espécies mostraram atividade frente a *S. aureus* e outros micro-organismos (SALVAGNINI et al., 2008; GOLÇALVES; ALVES FILHO; MENEZES, 2005). Stieven e colaboradores (2009) utilizaram extratos e óleo essencial do fruto da Uvaia frente as bactérias *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis* e não apresentou atividade antimicrobiana. Vivot e colaboradores (2008) também não encontrou atividade bacteriana de extratos das partes aéreas da planta Guabiju frente a bactérias e fungos (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* e *Aspergillus niger*).

O método de disco difusão utilizado nesse estudo, foi idealizado por Bauer et al. em 1966, e desde então é um dos métodos mais utilizados nos laboratórios de microbiologia no Brasil. O princípio deste método, baseia-se na difusão através do ágar, de um antimicrobiano impregnado em um disco de papel-filtro (SEJAS; SILBERT et al., 2003). Quando se trata de extratos vegetais, aplica-se um grande número de metodologias para detecção de atividade antimicrobiana, e a técnica de difusão em disco é a mais adequada para se trabalhar com extratos vegetais coloridos e ou extraídos com solventes orgânicos (SILVEIRA; OLEA et al., 2009).

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, os resultados do trabalho indicaram que dentre os extratos etanólicos analisados apenas o extrato da espécie *Campomanezia guazumifolia* apresentou atividade antimicrobiana frente as bactérias *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella*, enquanto que os extratos das demais plantas não apresentaram atividade.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

NESELLO, L.N. Triagem antimicrobiana de extratos metanólicos obtidos de plantas frutíferas selecionadas da flora catarinense, Brasil. **Infarma**. Universidade do Vale do Itajaí – UNIVALI, v.29 , n.4, p.357-363, 2017.

SEJAS, L.; SILBERT, S.; REIS, A.; SADER, H. Avaliação da qualidade dos discos antimicrobianos para testes de disco difusão disponíveis comercialmente no Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v. 39, n. 1. 27-35. 2003.

SILVA, Y. L. da; TAKEMURA, O. S.; SANTOS, S. R. da S. R. dos; ROMAGNOLO, M. B.; LAVERDE JUNIOR, A. Triagem fitoquímica e avaliação de propriedades biológicas do extrato alcoólico das folhas de *Eugenia pyriformis Cambess.* (Myrtaceae). **Arq. Cienc. Saúde UNIPAR**, Umuarama, v. 19, n. 3, p, 205-211, set./dez. 2015.

SILVEIRA, L.; OLEA, R.; MESQUITA, J.; CRUZ, A. da; MENDES, J. Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extrato de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. **Rev. Bras. Farm.** p. 124 – 128, 2009.

SALVAGNINI, L. E. et al. Avaliação da Atividade Antibacteriana de folhas de *Myrtus communis L.* (Myrtaceae). **Rev. Bras. Farmaco** n., v. 18, n. 2, p. 241- 244, 2008.

STIEVEN, A. C.; MOREIRA, J. J. S.; SILVA, C. F. Óleos essenciais de uvaia (*Eugenia pyriformis Cambess.*): avaliação das atividades microbiana e antioxidante. **Eclética Química**, v. 34, n. 3, p. 7-16, 2009.

VIVOT, E., Massa, R., Cruañes, M. J., de D. Munoz, J., Ferraro, G., Gutkind, G., & Martino, V.. Actividad Antimicrobiana In Vitro de Seis Especies Autóctonas de la Flora de Entre Ríos (Argentina). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 4, p. 563, 2007.