

ESTUDO DA AÇÃO ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE PLANTAS DO GÊNERO *Psidium*

Aline Maritan AMANCIO¹

Luciana de Oliveira REIS²

Joana Beatriz Barros PEREIRA³

Maria LUCIA⁴

Luiz Cosme Cotta MALAQUIAS⁵

Jorge Kleber CHAVASCO⁶

¹Farmacêutica-Bioquímica pela Universidade Vale do Rio Verde – UNINCOR.

alinemaritan@yahoo.com.br

²Farmacêutica-Bioquímica pela Universidade Vale do Rio Verde – UNINCOR.

lujesuania@gmail.com

³Professora da Universidade do Estado de Minas Gerais - UEMG.

joanabeatrizbp@hotmail.com

⁴Professora da Universidade Jose do Rosário Vellano- UNIFENAS.

malu1118@hotmail.com

⁵Professor da Universidade Federal de Alfenas- UNIFAL-MG.

luiz.malaquias@unifal-mg.edu.br

⁶Professor da Universidade Federal de Alfenas- UNIFAL-MG.

jkchavasco@uol.com.br

Recebido em: 23/02/2015 - Aprovado em: 29/06/2015 - Disponibilizado em: 15/07/2015

RESUMO

O uso indiscriminado dos antimicrobianos tem aumentado à resistência dos microrganismos agravando este problema. As plantas do gênero *Psidium* são utilizadas pela população como agentes anti-infecciosos, como preparações de chá das folhas do araçazeiro (*Psidium cattleianum*) e da goiabeira de polpa vermelha, (*Psidium guajava*). A fim de buscar novas alternativas para o tratamento de infecções, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana de plantas do gênero *Psidium* (araçazeiro e goiabeira) para posterior uso como fonte de moléculas a serem utilizadas como agentes antimicrobianos. Os extratos das folhas verdes e secas foram obtidos por maceração por sete dias em álcool etílico a 70% na concentração de 80% P/V, com uma agitação diária. Na determinação do perfil fitoquímico dos extratos identificou-se taninos, flavonóides, antroderivados, saponinas e alcalóides. A ação antimicrobiana foi avaliada através da técnica de difusão em ágar usando poços de 4 mm de diâmetro onde foram colocados os extratos. Os diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano para os extratos de folha de araçazeiro verde, araçazeiro seco, goiabeira verde e goiabeira seca foram respectivamente para *Candida albicans* 16 mm, 15 mm, 0 mm e 0 mm; *Saccharomyces cerevices* 14 mm, 14 mm, 06 mm e 08 mm; *Pseudomonas aeruginosa* 13 mm, 12 mm, 11 mm e 12 mm; *Escherichia coli* 10 mm, 09 mm, 0 mm e 06 mm; *Staphylococcus aureus* 24 mm, 23 mm, 16 mm e 21 mm e *Micrococcus luteus* 23 mm, 21 mm, 15 mm e 16 mm. Os extratos da folha do araçazeiro apresentaram halos de inibição do crescimento sobre todos os microrganismos testados. Considerando o tamanho dos halos de inibição, verificou-se que as bactérias Gram positivas foram as mais sensíveis e as Gram negativas e leveduras as mais resistentes.

Palavras chave: *Psidium cattleianum*. *Psidium guajava*. Antimicrobiano. Difusão em agar. Extratos vegetais.

ABSTRACT

The indiscriminate use of antibiotics has led to resistance of the microorganisms exacerbating this problem. The gender *Psidium* are plants used by the population as anti-infective agents such as tea preparations of strawberry guava leaves (*Psidium cattleianum*) and red pulp of guava (*Psidium guajava*). In order to search for new alternatives for the treatment of infections, the aim of present work was to evaluate the antimicrobial activity of plants of the genus *Psidium* (strawberry guava and guava) for later use as a source of molecules to be used as antimicrobial agents. The extracts of green leaves was obtained and dried for seven days for maceration in 70% ethanol at a concentration of 80% w/v, with daily mixing. The phytochemical profile identified in the extracts was tannins, flavonoids, anthraquinone, saponins and alkaloids. The antimicrobial activity was assessed by agar diffusion technique using wells of 4 mm in diameter where the extracts were placed. The diameters of zones of inhibition of microbial growth for the green guava leaf extracts, dry guava, guava and green dry guava respectively for *Candida albicans* were 16 mm, 15 mm, and 0 mm 0 mm; *Saccharomyces cerevices* 14 mm, 14 mm, 06 mm and 08 mm; *Pseudomonas aeruginosa* 13 mm, 12 mm, 11 mm and 12 mm; *Escherichia coli* 10 mm, 09 mm, 06 mm and 0 mm; *Staphylococcus aureus* 24 mm, 23 mm, 16 mm and 21 mm and 23 mm *Micrococcus luteus*, 21 mm, 15 mm and 16 mm. The strawberry guava leaf extracts showed growth inhibition zones on all the microorganisms. Considering the size of the inhibition halos, it was found that Gram positive bacteria are more sensitive and Gram-negative bacteria and yeast are more resistant.

Keywords: *Psidium cattleianum* . *Psidium guajava* . Antimicrobial. Agar diffusion . Plant extracts .

INTRODUÇÃO

As drogas antimicrobianas são largamente utilizadas e tem provocado a seleção de microrganismos resistentes. Isto se torna um problema mundial em saúde, pois os resistentes acarretam riscos à vida humana produzindo infecções de difícil tratamento e cura. Os antimicrobianos de natureza sintética são os mais usados e os que apresentam maior prevalência de microrganismos resistentes. Uma alternativa para esta situação é pesquisar e produzir novas moléculas antimicrobianas a partir de produtos naturais.

As plantas do gênero *Psidium* são utilizadas pela população como agentes anti-infecciosos, como

preparações de chá das folhas do araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) e da goiabeira de polpa vermelha, (*Psidium guajava*). O relato de sucesso terapêutico deste procedimento sugere uma ação antimicrobiana no mecanismo de ação destes chás. Gonçalves et al., (2005) pesquisaram ação antimicrobiana em 17 árvores nativas, incluindo a goiabeira, diante de um conjunto de microrganismos. O extrato de folhas de goiabeira preparado no experimento apresentou ação antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* e *Proteus mirabilis*. *Psidium cattleianum* Sabine uma espécie da família Myrtaceae, conhecido popularmente como araçá, é uma espécie encontrada de Minas Gerais até

o Rio Grande do Sul e Nordeste do Uruguai, onde é a árvore frutífera nativa mais abundante (CASAGRANDE JUNIOR et al., 1999). É usado popularmente como antidiarreico e antidisentérico (ALICE et al., 1995). A atividade antimicrobiana do óleo essencial do araçá foi descrita por Desoti et al (2011) que comprovou o efeito pelo método de microdiluição em placa, frente a alguns micro-organismos Gram positivos, Gram negativos e leveduras (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*). Souza et al (2004), realizaram um estudo em que comprovaram a atividade antimicrobiana dos extratos metanólicos das folhas do araçazeiro, por meio do método de difusão em ágar verificando atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* e *Micrococcus luteus*

MATERIAL E MÉTODOS

A coleta das folhas de goiabeira (*Psidium guajava*- fruto da polpa vermelha) foi realizada na Chácara Cabo Verde em Areado-MG com georreferenciamento pelo Google a 21° 24' 39,44" Sul e 46° 08' 53,81" Oeste e

araçazeiro (*Psidium cattleianum*) foi realizada na Fazenda Patrimônio em Três Corações/MG, com georreferenciamento pelo Google a 21° 38' 43,3" Sul e 45° 06' 15,67" Oeste. As exsiccatas foram depositadas no herbário da Universidade Federal de Alfenas e identificadas pelo Prof. Dr. Marcelo Polo recebendo os seguintes números: *Psidium cattleianum* Sabine UALF 2532 e *Psidium guajava* L, UALF 2534.

Para o preparo do extrato de folhas verdes de araçazeiro e de goiabeira (fruto de polpa vermelha) utilizamos a seguinte técnica: As folhas da goiabeira e do araçazeiro foram limpas com gaze e fragmentadas manualmente e posteriormente trituradas em moinho de faca ("Skymesen", modelo TA-02 código 01148-3) e preparados os extratos hidroetanólicos na proporção de 80% peso/volume usando álcool etílico a 70%. Os extratos assim preparados foram macerados por 7 dias, mantidos ao abrigo da luz, com uma agitação diária. Após maceração foram filtrados em papel de filtro qualitativo ("Nalgon", 3micras, 80g/m² de 15 cm de diâmetro). Após a filtração os extratos foram mantidos em geladeira a 8°C até o momento da concentração em rotaevaporador a pressão negativa de

450 mmHg e uma temperatura de 60 °C. Posteriormente foram liofilizados.

Para o preparo do extrato de folhas secas de araçazeiro e de goiabeira utilizamos a seguinte técnica: As folhas da goiabeira e do araçazeiro foram limpas com gaze e deixadas secar a temperatura 37° em estufa por 7 dias protegidas da luz e umidade. Após a secagem as mesmas foram trituradas em moinho de faca (“Skymesen”, modelo TA-02 código 01148-3) e preparados os extratos hidroetanólicos na proporção de 80% peso/ volume usando álcool etílico a 70%. Os extratos assim preparados foram macerados por sete dias mantidos ao abrigo da luz, com uma agitação diária. Após maceração foram filtrados em papel de filtro qualitativo (“Nalgon”, 3micras, 80g/m² de 15cm de diâmetro). Após a filtração os extratos foram mantidos em geladeira a 8°C até o momento da concentração em rotaevaporador a pressão negativa de 450mmHg e uma temperatura de 60 °C e posteriormente liofilizados, (SILVA et al. 2010).

Na caracterização fitoquímica foram realizados testes através de reações de coloração e precipitação pela técnica de Matos, (1988).

Para o teste microbiológico foram utilizados as seguintes cepas microbianas:

C. albicans ATCC 10231 ; *S. cerevisiae* ATCC 2601; *P. aeruginosa* ATCC 27853; *E. coli* ATCC 25922; *S. aureus* ATCC 6538; *M. luteus* ATCC 9341, mantidas no Laboratório de Microbiologia e Imunologia Básicas da UNIFAL-MG.

A ação antimicrobiana foi avaliada segundo a técnica descrita por Silva et al ,(2010), através do teste de difusão em ágar colocando os extratos em poços de 4 mm de diâmetro perfurados na superfície do meio de cultura com auxílio de um tubo metálico. Para as bactérias foi utilizado o Agar Mueller Hinton e para as leveduras o Agar Mueller Hinton adicionado de 2% de glicose. Foi preparada uma suspensão de microrganismos em soro fisiológico com turvação correspondente ao tubo 0,5 da Escala de Mac Farland. As suspensões microbianas foram inoculadas na superfície do Agar com auxílio de um swab. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. Após a incubação, foi feita a leitura dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano. Paralelamente foi realizado o controle positivo utilizando solução de clorexidina a 0,12

% e o controle negativo com a água destilada. Todos os testes foram realizados em triplicata.

RESULTADOS

Quadro 01: Análise fitoquímica dos extratos de folha verde e seca do araçazeiro (*Psidium cattleianum*) e da folha verde e seca da goiabeira (*Psidium guajava*- fruto da polpa vermelha).

Substâncias encontradas	Araçazeiro Folha Verde	Araçazeiro Folha Seca	Goiabeira Folha Verde	Goiabeira Folha Seca
Taninos totais	+	+	+	+
Taninos catéquicos	+	+	+	+
Taninos pirogálicos	+	+	+	+
Flavonóides	traços	traços	-	-
Saponinas	traços	traços	+	+
Alcalóides	traços	traços	traços	Traços
Antroderivados	+	+	+	+

Fonte: Os autores

Quadro 02: Avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos de folha verde e seca do araçazeiro (*Psidium cattleianum*) e da folha verde e seca da goiabeira (*Psidium guajava*- fruto da polpa vermelha).

Numeração na placa	Extratos	<i>C. albicans</i>	<i>S. cerevisae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>M. luteus</i>
1	Araçazeiro Folha Verde	16 mm	14 mm	13 mm	10 mm	24 mm	23 mm
2	Araçazeiro Folha Seca	15 mm	14 mm	12 mm	09 mm	23 mm	21 mm
3	Goiabeira Folha Verde	0 mm	06 mm	11 mm	0 mm	16 mm	15 mm
4	Goiabeira Folha Seca	0 mm	08 mm	12 mm	6 mm	21 mm	16 mm
5	H ₂ O destilada	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm	0 mm
6	Clorexidina a 0,12%	21 mm	18 mm	17 mm	18 mm	23 mm	24 mm

Fonte: Os autores

No perfil fitoquímico dos extratos, realizado segundo a metodologia de Matos, (1988), foram identificados princípios ativos como taninos, flavonóides, antroderivados, saponina e alcalóides. Nos extratos das folhas verdes e secas do araçazeiro, foram

identificados taninos, catéquicos e pirogálicos, e antroderivados, sendo identificados traços de flavonóides, saponinas e alcalóides. Enquanto nos extratos das folhas verdes e secas da goiabeira de polpa vermelha foi observada a ausência de flavonóides,

identificados traços de alcalóides e presença de taninos, catéquicos e pirogálicos, antroderivados e saponina.

Quanto aos testes de atividade antimicrobiana, o diâmetro dos halos de inibição que se apresentaram para os extratos de araçazeiro verde, araçazeiro seco, goiabeira verde e goiabeira seco sobre os microrganismos foram, respectivamente: *Candida albicans* (ATCC 10231) 16mm, 15mm, 0mm e 0mm; *Saccharomyces cerevices* (ATCC 2601) 14mm, 14mm, 06mm e 08mm; *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) 13mm, 12mm, 11mm e 12mm; *Escherichia coli* (ATCC 25922) 10mm, 09mm, 0mm e 06mm; *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) 24mm, 23mm, 16mm e 21mm e *Micrococcus luteus* (ATCC 9351) 23mm, 21mm, 15mm e 16mm.

DISCUSSÃO

Gnan et al., (1999) demonstraram que o extrato de folhas da goiabeira era ativo contra alguns microrganismos, principalmente para *Staphylococcus aureus* e que este extrato poderia ser uma importante fonte de novos compostos, o que foi também verificado no presente trabalho já que os halos de inibição para *S. aureus* foram apresentados acima dos 16mm. Segundo Menezes, 2004 um

resultado positivo também foi encontrado quando se testou o extrato de *Psidium guajava* (goiabeira), apresentando halo em torno de 25mm para *S. aureus* (ATCC 25923), embora não especificado se o extrato provinha de folhas secas ou verdes de goiabeiras ou com frutos de polpa vermelha ou não.

Alves (2006), ao utilizar o extrato vegetal de *Psidium guajava* sobre diversas cepas da levedura *Candida sp.*, demonstrou que o extrato vegetal exibe atividade antifúngica, já que para *C. albicans* apresentou halos de inibição que variaram de 22mm para o extrato bruto a 11mm para uma diluição de 1:32 em testes para avaliação da Concentração Inibitória Mínima. Segundo Cárceres (1990), a goiabeira apresenta atividade antifúngica através do macerado hidroalcoólico de suas folhas contra *C. albicans*, entretanto, no presente estudo a cepa utilizada mostrou-se resistente ao extrato de folha de goiabeira, tanto o obtido de folhas verdes como os de folha seca. Existem poucos relatos na literatura sobre a propriedade antimicrobiana de *Psidium cattleianum*.

Souza et al.(2004) demonstraram a atividade de *P. cattleianum* frente à *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* e *Micrococcus luteus*, através do

teste de difusão no ágar. Resultados semelhantes foram encontrados no nosso trabalho utilizando a mesma técnica. BRIGHENTI et al (2012) demonstraram a atividade inibitória sobre o crescimento de *S. mutans*. CRIVELARO DE MENEZES et al (2010), demonstraram a ação protetora de extrato aquoso sobre o aparecimento de caries em ratos. BRIGHENTI et al (2008) relata atividade antimicrobiana de *Psidium cattleianum* na inibição da formação de biofilme dental. Estes resultados corroboram os nossos mostrando a maior atividade sobre bactérias Gram positivas.

Em um trabalho desenvolvido por Iha (2008), pode-se identificar a presença de taninos, possíveis responsáveis pela atividade antimicrobiana e flavonóides, possivelmente com atividade antioxidante, nos extratos de goiabeira. Taninos, catéquicos e pirogálicos também foram identificados durante a análise do perfil fitoquímico realizado, embora não tenha sido constatada a presença de flavonóides, fato que pode ser explicado pelo período da coleta. Para Monteiro et al. (2005), os taninos são compostos que possuem a habilidade de formar complexos com proteínas que são insolúveis em água. O efeito antimicrobiano dos compostos

pertencentes a este grupo, já foi comprovada em inúmeros estudos relacionados a diferentes bactérias e fungos.

Segundo Simões et al. (2002), acredita-se que esta atividade é devido à inibição de enzimas de bactérias e fungos, à ação direta na membrana dos micro-organismos ou pela competição pelos íons metálicos, essenciais ao metabolismo microbiano. Além disso, devido ao seu caráter fenólico, são conferidas propriedades antissépticas (COSTA, 1994).

CONCLUSÃO

A pesquisa demonstrou que o extrato da folha do araçazeiro assim como o da folha de goiabeira possuem ação antimicrobiana constituindo uma fonte promissora na obtenção de novas moléculas com ação antimicrobiana, podendo no futuro ter uso terapêutico. As bactérias Gram positivas foram as mais sensíveis e as Gram negativas e leveduras as mais resistentes.

REFERÊNCIAS

- ALICE, C. B. et al. **Plantas medicinais de uso popular: Atlas Farmacognóstico**. Canoas: Ulbra, 1995. 205 p.
- ALVES, POLLIANNA M.; LEITE, PEDRO H.A.S.; PEREIRA, JOZINETE

V. et al. **Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação *in vitro*.** *Rev. bras. farmacogn.*, vol.16, no.2, p.192-196. abr./jun,2006.

BRIGHENTI FL¹, LUPPENS SB, DELBEM AC, DENG DM, HOOGENKAMP MA, GAETTI-JARDIM E JR, DEKKER HL, CRIELAARD W, TEN CATE JM
Effect of *Psidium cattleianum* leaf extract on *Streptococcus mutans* viability, protein expression and acid production. *Caries Res.* ;42(2):148-54,2008

BRIGHENTI FL, GAETTI-JARDIM E JR, DANELON M, EVANGELISTA GV, DELBEM AC. Effect of *Psidium cattleianum* leaf extract on enamel demineralisation and dental biofilm composition *in situ*. *Arch Oral Biol.* Aug;57(8):1034-40,2012.

CACERES, A. et al. **Plants used in Guatemala for the treatment of gastrointestinal disorders. Screening of 84 plants against enterobacteria.** *J. Ethnopharm.*, Amsterdam, v.30, n.2, p.55-73, 1990.

CASAGRANDE JUNIOR, J. G. et al. Influência do sombreamento sobre os teores de carboidratos e fenóis em estaca semilenhosas de araçazeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 12, p. 2219-2223, 1999.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 5. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994. 1031 p.

CRIVELARO DE MENEZES TE¹, BOTAZZO DELBEM AC, LOURENÇÃO BRIGHENTI F, CLÁUDIA OKAMOTO

A, GAETTI-JARDIM E JR. Protective efficacy of *Psidium cattleianum* and *Myracrodruon urundeuva* aqueous extracts against caries development in rats. *Pharm Biol.* 48(3):300-5.mar,2010.

DESOTI, V. C.; MALDANER, C. L.; CARLETTO, M. S.; HEINZ, A. A.; COELHO, M. S.; PIATI, D.; TIUMAN, T. S. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. *Arq. Ciênc. Saú- de UNIPAR*, Umuarama, v. 15, n. 1, p. 3-13, jan./abr. 2011.

GNAN S.O; DEMELLO M.T.
Inhibition of *Staphylococcus aureus* by aqueous goiaba extracts. *J Ethnopharmacol* 68: 103-108, 1999.

GONÇALVES, A.L.; ALVES FILHO, A; MENEZES, H. **estudo comparativo da atividade antimicrobiana de extratos de algumas árvores nativas.** *Arq. Inst. Biolo.*, São Paulo, v. 72, n.3 p. 353-358, jul/set de 2005.

IHA Silvia M, et al. **Estudo fitoquímico de goiaba (*Psidium guajava* L.) com potencial antioxidante para o desenvolvimento de formulação fitocosmética.** *Rev. Bras. Farmacogn. Braz J. Pharmacogn.* 18(3): Jul./Set. 2008.

MATOS, F. J. A. **Introdução a Fitoquímica Experimental.** Fortaleza: Ed UFC, 1988. 126p.

MENEZES, M. de C.; SOUZA, M. M. S. de e BOTELHO, R. P. **Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de extratos de plantas brasileiras sobre bactérias isoladas da cavidade oral de cães.** *Revista Universidade Rural: Série Ciências da Vida, Seropédica*, RJ: EDUR, v. 24, n.2, p. 141-144, jul.- dez., 2004.

MONTEIRO, J. M. M. et al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

NISENGARD, Russel J.; NEWMAN, Michael G.; **Microbiologia oral e imunologia**. 2 Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1994. 395p.

SOUZA, G. C. et al.
Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 90, n. 1, p. 135-143, 2004

SILVA,R.B., ALMEIDA,C. R.
CHAVASCO,J.M.; CHAVASCO,J.K.
Antimicrobial Activity Evaluation and MIC Determination of *Bixa Orellana* L Liophilized Hydroalcoholic Extracts. Revista Brasileira de Farmacognosia 20(2):171-174,Abr.-mai.,2010.

SIMÕES, C. M. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4. ed. Porto Alegre: UFSC, 2002. 798p.