



AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE FRUTOS, FOLHAS E GALHOS DE *Eugenia pyriformis* Cambess.

Raíssa C. FERREIRA¹; Sindynara FERREIRA²; Wallace R. CORRÊA²

RESUMO

O uso e a importância das plantas medicinais vêm desde o início da humanidade. O objetivo do trabalho foi realizar estudo para a bioprospecção do extrato etanólico de frutos, folhas e galhos de *Eugenia pyriformis* Cambess. Foi analisada a atividade antimicrobiana (método de microdiluição em placas de 96 poços), visando verificar o potencial medicinal. Os resultados constatam que os extratos etanólicos, demonstram ter inibição mais efetiva sobre microrganismos Gram-positivos que em Gram-negativos.

INTRODUÇÃO

O emprego de plantas medicinais vem desde o início da história do homem na Terra. O homem primitivo dependia da natureza para a sua sobrevivência e utilizava as plantas medicinais para cura de enfermidades. No Brasil, o uso destas plantas possui forte ligação com a cultura indígena, possuindo influências européias e africanas (GRANDI et al., 1989).

Os produtos naturais de origem vegetal são importantes fontes de substâncias biologicamente ativas, podendo apresentar compostos com atividade

¹ Graduanda em Engenharia Agrônoma, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes/MG - E-mail: racferreira@yahoo.com.br.

² Docentes do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais – Câmpus Inconfidentes. Inconfidentes/MG. E-mail: sindynara.ferreira@ifsulde Minas.edu.br, wallace.correa@ifsulde Minas.edu.br.

antimicrobiana, revelando o potencial medicinal da espécie (ARAÚJO, 2011). Portanto a ampliação e disseminação de estudos sobre espécies vegetais com potencial medicinal devem ser desenvolvidos com intuito de promover o incremento de conhecimentos ligados à área.

A espécie *Eugenia pyriformis* Cambess., pertence à família Myrtaceae, sendo conhecida como uvalheira, uvalha ou uvaia, é uma árvore de seis a treze metros de altura, apresenta copa arredondada, tronco geralmente ereto, com 30 a 50 centímetros de diâmetro. A uvaia contém flores solitárias, de coloração branca que florescem nos meses de agosto a setembro, apresentando início de maturação dos frutos em setembro, prolongando-se até novembro. Esta espécie apresenta frutos, drupas globosas de coloração amarela, deiscentes, carnosos, detentores de uma a três sementes com tegumento de coloração castanha, cotilédones carnosos e justapostos (LORENZI, 1998; ANDRADE; FERREIRA, 2000).

Estudos realizados têm demonstrado que a espécie *E. pyriformis* apresenta atividade bacteriostática (STIEVEN; MOREIRA; SILVA, 2009; CHAVASCO et al., 2014; SOUZA, 2013). Sendo identificado por Stefanello et al. (2009), através da análise da composição química do óleo essencial das flores e frutos da espécie, a presença de limoneno e outros compostos, sendo o limoneno, não comumente encontrado em espécies de Myrtaceae. O limoneno e seus derivados apresentam atividade antimicrobiana, antifúngica, antitumoral e entre outras, atividade inseticida (ROSA, 2010). Verifica-se então que esta espécie frutífera, expressa fortes evidências que acabam por enquadrá-la na classificação das plantas medicinais, e requer avaliação mais detalhada. Em vista disto, o objetivo do presente trabalho foi realizar o estudo para a bioprospecção do extrato etanólico de frutos, folhas e galhos da espécie *E. pyriformis*.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta e preparação do extrato

As folhas, galhos e frutos da espécie *Eugenia pyriformis* Cambess. foram coletados na Fruticultura do IFSULDEMINAS - Câmpus Inconfidentes, Inconfidentes/MG. O material foi acondicionado em recipiente hermético e encaminhado ao Laboratório de Biociências do mesmo Câmpus. A coleta de folhas e

galhos foi realizada em maio de 2014, de forma aleatória. E os frutos foram selecionados visualmente, tendo como base de maturação a coloração amarela, sendo coletados no período de frutificação da espécie, em outubro e novembro de 2013. Após a coleta, os frutos foram armazenados sob refrigeração.

Para a preparação dos extratos brutos após estabilização e secagem, em estufa com ar circulante à temperatura de 40°C, as folhas, frutos e galhos da espécie *E. pyriformis* foram pulverizadas em moinho de faca. O pó das folhas, frutos e galhos foram pesados. Após, foram acondicionados em Erlenmeyer e submetidos ao processo de maceração com solvente orgânico (Etanol), na proporção massa de pó/solvente 1:20 (massa/volume). O solvente foi removido em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, até a obtenção do extrato bruto.

Ensaio para a avaliação da atividade antimicrobiana

Os ensaios da atividade antimicrobiana, as concentrações biocidas mínimas (CBM), foram determinados utilizando-se o método de microdiluição em placas de 96 poços, seguindo adequação descrita por Salvador (2005). Para a execução dos ensaios foram utilizadas bactérias gram-positivas e gram-negativas, sendo elas: gram-negativa: *Escherichia coli* (ATCC 10799); gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Bacillus subtilis* (Bs)^b, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus aerogenes* (ATCC 27853), *Staphylococcus 8-*, *Staphylococcus aureus penicillinase + (7+)*.

As bactérias foram cultivadas em meio MH (Müller Hinton), em placas de 20 x 150 mm, 24 horas antes da inoculação nas placas. Para a montagem da placa foi utilizado 50 µL de meio TSB (Tryptone Soya Broth) em todos os poços, 50 µL da droga teste preparadas em propilenoglicol (1:19) nas concentrações de 0,5 e 1,0 mg/ml. Cada poço recebeu um inóculo de 10 µL de suspensão de microrganismos. Como controle positivo foi utilizado bacitracina 2,7 mg/ml e como controle negativo propilenoglicol.

As placas-testes foram incubadas a 37°C por 24 horas. Decorrido o período de incubação cada poço recebeu um inóculo de 20 µL de tetrazólio e foram incubadas a 37°C por 24 horas. A leitura foi realizada visualmente comparando as amostras com os controles. Os experimentos foram realizados em duplicata, para cada cepa utilizada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo demonstrou que os extratos etanólicos de folhas, galhos e frutos da espécie *Eugenia pyriformis* Cambess. apresentam atividade antimicrobiana. Os resultados mais eficazes, que abrangeram folhas, galhos e frutos da espécie, foram frente às cepas bacterianas: *Bacillus subtilis* (Bs)^b e *Enterococcus aerogenes* (ATCC 27853) com CBM de 0,5 mg/ml. As cepas *Escherichia coli* (ATCC 10799)^a e *Staphylococcus aureus penicillinase* + (7+) não foram inibidas pelos extratos (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade antibacteriana dos extratos brutos de frutos, folhas e galhos de *Eugenia pyriformis* Cambess., expressa em termos de concentração biocida mínima, CBM (mg/ml), determinada pela técnica de microdiluição.

Microrganismos	Fruto	Folha	Galho
	EBE	EBE	EBE
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 10799) ^a	-	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> (Bs) ^b	0,5	0,5	0,5
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 14458) ^a	-	0,5	1,0
<i>Proteus vulgaris</i>	1,0	1,0	1,0
<i>Staphylococcus aureus penicillinase</i> + (7+)	-	-	-
<i>Staphylococcus</i> 8-	-	0,5	1,0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228)	-	0,5	0,5
<i>Enterococcus aerogenes</i> (ATCC 27853)	0,5	0,5	0,5

^a: cepa padrão American Type Culture Collection (ATCC); ^b: cepa de campo; -: não se observou inibição do crescimento microbiano até a maior concentração avaliada de 1,0 mg/mL para os extratos brutos; CBM: concentração biocida mínima (mg/mL) = concentração que inibe em 100% o desenvolvimento microbiano. ^aDados expressos como média de análise em duplicata. Amostras: EBE: extrato bruto em etanol.

Stieven, Moreira e Silva (2009) analisaram a atividade antimicrobiana do óleo essencial de frutos de uvaia pelo método de difusão em disco. Puderam verificar ação antimicrobiana para *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, e *Enterococcus faecalis* e não verificaram atividade frente à *Pseudomonas aeruginosa*. A inibição da bactéria *S. aureus*, verificada através da técnica de microdiluição, realizada no presente trabalho, demonstrou semelhança ao resultado obtido pelos autores citados, embora a avaliação neste caso seja referente aos extratos etanólicos de folhas e galhos de uvaia. Porém, não houve inibição de *E. coli* no presente trabalho.

Esta diferença pode estar relacionada com a origem da planta e/ou com a linhagem bacteriana estudada.

Chavasco et al. (2014) avaliaram a ação inibitória frente a cepas bacterianas através da técnica de difusão em agar e microdiluição em caldo, onde pode-se verificar que o extrato do fruto de uvaia apresentou ação antimicrobiana frente a bactéria *Bacillus subtilis*, confirmando os resultados do presente trabalho. Os autores também verificaram ação inibitória do extrato do fruto de uvaia frente a *S. aureus*, diferentemente do resultado encontrado no presente trabalho. Esta diferença também pode estar relacionada com a origem da planta e/ou com a linhagem bacteriana estudada.

Souza (2013) ao avaliar a atividade antimicrobiana, através das técnicas de bioautografia e microdiluição em caldo, verificou que a fração do extrato acetônico do caule e da folha, as frações hidroalcoólica e acetato de etila das folhas de uvaia mostraram um bom potencial inibitório contra os microrganismos Gram-positivos, porém, ausência de atividade para os Gram-negativos. Resultado semelhante ao encontrado no presente estudo, em que não foi verificada inibição frente às cepas de *E. coli*. A reduzida atividade inibitória apresentada nas bactérias Gram-negativas pode ser decorrente de características estruturais, pois a presença de membrana externa em torno da parede celular forma uma barreira de permeabilidade que dificulta a difusão de compostos (CHEW et al., 2011).

CONCLUSÕES

Este estudo possibilitou concluir que os extratos etanólicos de folhas, galhos e frutos de *Eugenia pyriformis* Cambess. apresentam atividade antimicrobiana frente às cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Bacillus subtilis* (Bs)^b, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus aerogenes* (ATCC 27853) e *Staphylococcus 8-*.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, R. N. B.; FERREIRA, A. G. Germinação e armazenamento de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Camb.) – Myrtaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 118-125, 2000.

ARAÚJO, I. S. **Atividade antimicrobiana de plantas aromáticas que ocorrem no Estado do Pará**. 2011. 103 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia), Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana. 2011.

CHAVASCO, J. M. et al. Evaluation of antimicrobial and cytotoxic activities of plant extracts from Southern Minas Gerais Cerrado. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 56, n. 1, p.13-20, 2014.

CHEW, Y. L. et al. Assessment of phytochemical content, polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of Leguminosae medicinal plants in Peninsular Malaysia. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 11, n. 12, 2011.

GRANDI, T. S. M. et al. Plantas medicinais de Minas Gerais, Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v. 3, n. 2, suppl.1, p. 185-224, 1989.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 1998. 352 p.

ROSA, J. D. da. **Atividade Repelente e Sistemas Nanoestruturados Desenvolvidos com Limoneno: Revisão**. 2010. 20 p. Trabalho de Conclusão da Disciplina de Estágio Curricular em Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010.

SALVADOR, M. J. **Estudo químico, biológico e biotecnológico de *Alternanthera maritima* e *Alternanthera tenella* (Gomphreneae, Amaranthaceae)**. 2005. 410 p. Doutorado (Doutorado em Ciências - Área Química), Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2005.

SOUZA, A. M. de. **Avaliação do potencial antimicrobiano de *Eugenia pyriformis* Cambess., Myrtaceae e estudo da associação sinérgica com agentes antibacterianos e antifúngicos de uso clínico**. 2013. 118 p. Dissertação (Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná. 2013.

STEFANELLO, M. E. A. et al. Composição Química e Variação Sazonal dos Óleos Essenciais de *Eugenia pyriformis* (Myrtaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, n. 3, p. 449, 2009.

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**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 7-13, 2009.