

Cordeiro CJD, Caldas FRL, Machado MIR, Santos AJ, Oliveira TMBF & Silva JH (2020). Evaluation of the antioxidant potential and antibacterial activity of the pulp extract of *Psidium brownianum* Mart. ex DC. *Research, Society and Development*, 9(7): 1-21, e649974514.

Avaliação do potencial antioxidante e da atividade antibacteriana do extrato da polpa de

***Psidium brownianum* Mart. ex DC**

Evaluation of the antioxidant potential and antibacterial activity of the pulp extract of

***Psidium brownianum* Mart. ex DC**

Evaluación del potencial antioxidante y la actividad antibacteriana del extracto de pulpa

de *Psidium brownianum* Mart. ex DC

Recebido: 14/05/2020 | Revisado: 14/05/2020 | Aceito: 22/05/2020 | Publicado: 30/05/2020

Cícera Josevânia Daniel Cordeiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0146-6385>

Universidade Regional do Cariri, Brasil

E-mail: josevaniacordeiro2016@gmail.com

Francisco Rodrigo de Lemos Caldas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5376-849X>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Brasil

E-mail: rodrigo.lemos@ifce.edu.br

Maria Inês Rodrigues Machado

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8016-6999>

Universidade Federal do Cariri, Brasil

E-mail: ines.machado@ufca.edu.br

Alef Jakson Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7144-2592>

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Brasil

E-mail: alef3507@gmail.com

Thiago Mielle Brito Ferreira Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1858-8549>

Universidade Federal do Cariri, Brasil

E-mail: thiago.mielle@ufca.edu.br

João Hermínio da Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9518-3206>

Resumo

Espécies do gênero *Psidium* tem se apresentado eficiente quanto a características de interesses nutricionais, como riqueza em vitaminas e em substâncias antioxidantes. Além disso, atividade antibacteriana, tem sido evidenciada por extratos de espécies do gênero *Psidium*. Dessa forma, o presente estudo tem a finalidade avaliar o potencial antioxidante e a atividade antibacteriana do extrato da polpa de *Psidium brownianum* Mart. ex DC.. Os compostos fenólicos totais foram quantificados utilizando o reagente de Folin – Ciocalteau. O potencial antioxidante do extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. foi determinado pelo método fotocolorimétrico *in vitro* por sequestro do radical livre estável DPPH. Para avaliar a capacidade antibacteriana do extrato, fez uso do método de microdiluição em caldo. Os compostos fenólicos totais encontrados no extrato representam o valor de 1211 mg GAE/100 g da amostra. O extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. apresentou alto potencial antioxidante, provavelmente devido ao seu elevado teor de compostos fenólicos. A espécie também evidenciou atividade inibitória contra todas as cepas bacterianas testadas. À vista disso é possível inferir que a polpa de *Psidium brownianum* Mart. ex DC., mostra-se uma fonte rica em compostos fenólicos toais e potencial antioxidante, sendo assim sua ingestão se faz importante. Quanto à atividade antibacteriana mais estudos são necessários envolvendo possíveis associações desse extrato com outras substâncias, como forma de potencializar seu uso.

Palavras-chave: Araçá; Compostos fenólicos; Atividade inibitória; Cepas bacterianas.

Abstract

Species of the genus *Psidium* have come out to be efficient in terms of characteristics of nutritional interests, such as richness in vitamins and antioxidants. In addition, antibacterial activity has been evidenced by extracts from species of the genus *Psidium*. Thus, the present study aims to evaluate the antioxidant potential and antibacterial activity of *Psidium brownianum* Mart pulp extract. ex DC .. The total phenolic compounds were quantified by using the Folin - Ciocalteau reagent. The antioxidant potential of *Psidium brownianum* Mart. ex DC. was determined by the photocolometric method *in vitro* by sequestering the stable free radical DPPH. To evaluate the antibacterial capacity of the extract, it was used the broth microdilution method. The total phenolic compounds found in the extract represent the value

of 1211 mg GAE / 100 g of the sample. The extract of *Psidium brownianum* Mart. ex DC. Presented a high antioxidant potential, probably due to its high content of phenolic compounds. The species also evidenced inhibitory activity against all tested bacterial strains. According to this, it is possible to infer that the pulp of *Psidium brownianum* Mart. ex DC., comes out to be a rich source of total phenolic compounds and antioxidant potential, so ingesting it is important. As for antibacterial activity, further studies are needed involving possible associations of this extract with other substances, as a way to enhance its use.

Keywords: Araçá; Phenolic compounds; Inhibitory activity; Bacterial strains.

Resumen

Se ha demostrado que las especies del género *Psidium* son eficientes en términos de características de interés nutricional, como la riqueza en vitaminas y antioxidantes. Además, la actividad antibacteriana ha sido evidenciada por extractos de especies del género *Psidium*. Por lo tanto, el presente estudio tiene como objetivo evaluar el potencial antioxidante y la actividad antibacteriana del extracto de pulpa de *Psidium brownianum* Mart. ex DC .. Los compuestos fenólicos totales se cuantificaron usando el reactivo Folin - Ciocalteau. El potencial antioxidante de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. se determinó por el método fotolorimétrico in vitro mediante el secuestro del radical estable DPPH. Para evaluar la capacidad antibacteriana del extracto, utilizó el método de microdilución de caldo. Los compuestos fenólicos totales encontrados en el extracto representan el valor de 1211 mg de GAE / 100 g de la muestra. El extracto de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. presentó alto potencial antioxidante, probablemente debido a su alto contenido de compuestos fenólicos. La especie también mostró actividad inhibitoria contra todas las cepas bacterianas analizadas. En vista de esto, es posible inferir que la pulpa de *Psidium brownianum* Mart. ex DC., se muestra que es una rica fuente de compuestos fenólicos y potencial antioxidante, por lo que su ingestión es importante. En cuanto a la actividad antibacteriana, se necesitan más estudios que involucren posibles asociaciones de este extracto con otras sustancias, como una forma de mejorar su uso.

Palabras clave: Araçá; Compuestos fenólicos; Actividad inhibitoria; Cepas bacterianas.

1. Introdução

Espécies do gênero *Psidium* tem evidenciado importante potencial com características de interesses nutricionais, a exemplo da riqueza em vitaminas e em substâncias antioxidantes (Franzon, Campos, Proença, & Sousa-Silva, 2009), além do seu emprego para exploração não somente pelo aproveitamento alimentar, com consumo de frutos *in natura* e na fabricação de doces, sucos e geleias, mas também para a utilização de espécies na medicina (Campos, 2010) e possibilidades de uso na recuperação de áreas degradadas (Brandão, Laca-Buendía, & Macedo, 2002).

Dentre as espécies desse gênero, *Psidium brownianum* Mart. ex DC., também conhecido como araçá-de-veado, tem mostrado propriedades importantes como atividade antiparasitária contra as linhagens parasitárias *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania brasiliensis* e *L. infantum* (Souza et al., 2017), evidências farmacológicas no tratamento da dor (Sampaio et al., 2020), e seu uso etnobotânico foi verificado para fins alimentares (fruta) e medicinais (brotos), por exemplo, para o tratamento da gripe (Jesus, 2012).

Psidium brownianum Mart. ex DC. é designado como sendo, arbustos ou árvores, atingindo de 0,5 – 8 m. A planta apresenta flores trímeras, tetrâmeras ou pentâmeras e ovários biloculares, além de possuir geralmente 12 sementes, com ocorrências confirmadas no Nordeste (Alagoas, Bahia, Pernambuco) e Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro), é ainda nativa e endêmica do Brasil (Sobral, Proença, Souza, Mazine, & Lucas, 2015; Oliveira, 2013; Stadnik, Oliveira, & Roque, 2018), muitas vezes pode ser encontrada em áreas em regeneração. Tem registro de ocorrência também na Floresta Nacional do Araripe – Ceará (Braga, 2016).

Segundo estudos de Morais-Braga et al. (2015), *Psidium brownianum*, é rico em compostos fenólicos. Os benefícios gerados a saúde, concedidos aos alimentos que são ricos em compostos fenólicos, maiores responsáveis pela atividade antioxidante em frutos, e outros antioxidantes naturais, têm tornado grande a procura por novas espécies que possuam, além dessa propriedade, uma atividade biológica complementar relevante, como proteção a doenças crônicas ou degenerativas (Teixeira, 2015).

Ainda, extratos de espécies do gênero *Psidium* tem evidenciado atividade antibacteriana contra diversos micro-organismos, como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis* (Alvarenga, Mota, Royo, Laurentiz, & Menezes, 2016), *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* (Bittencourt, 2018; Melo, 2019) e *Escherichia coli* (Melo, 2019).

Diversas pesquisas ainda são necessárias para verificar o potencial da espécie *Psidium brownianum* Mart. ex DC., dado que o número de trabalhos efetuados com a planta ainda é escasso, e em sua maioria demonstram que ela localiza-se nesta região. Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar o potencial antioxidante e a atividade antibacteriana do extrato da polpa de *Psidium brownianum* Mart. ex DC..

2. Metodologia

O presente estudo faz uso de uma metodologia que pode ser caracterizada como uma pesquisa laboratorial e de natureza quantitativa (Pereira et al., 2018).

2.1 Local de coleta

Para preparação das exsiccatas, ramos de *Psidium brownianum* medindo aproximadamente 20 cm foram coletados na Floresta Nacional do Araripe – Crato (Ceará) (latitude: 07°17.336' S e longitude: 39°32.291' O, 934 m de altitude). As amostras dos frutos para preparação das polpas foram coletadas na Fazenda Barreiro Grande, município do Crato, Chapada do Araripe, estado do Ceará, Nordeste do Brasil. A Floresta Nacional do Araripe tem uma área de aproximadamente 39.000 ha, de ecossistema caatinga e localização nos municípios de Barbalha, Crato, Jardim, Missão Velha, Nova Olinda e Santana do Cariri, pertencentes à região semiárida do Ceará (Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará [IPECE], 2017).

Todo material somente foi coletado após autorização prévia do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade – SISBIO, com número 67205-1.

2.2 Material botânico

Exsiccatas foram produzidas e incorporadas no Herbário Caririense Dárdano de Andrade Lima da Universidade Regional do Cariri sob o número 13. 910, onde a espécie foi identificada como *Psidium brownianum* Mart. ex DC. A coleta dos ramos para preparação das exsiccatas foi realizada no final do mês de janeiro de 2019, durante o período da manhã. Os frutos para preparação das polpas foram coletados durante os meses de maio e junho do mesmo ano, também no turno matutino, em estado de maturação, observado visualmente através da coloração. As amostras dos frutos foram transportadas para o Laboratório de

Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Cariri e, armazenados em congelamento até o momento do processamento das polpas.

Para a obtenção das polpas, selecionaram-se os frutos em estado de maturação, retirando aqueles que se apresentavam deteriorados, em seguida, lavados e despulpados manualmente. Após, o material foi embalado em sacos plásticos e congelado até o momento das análises.

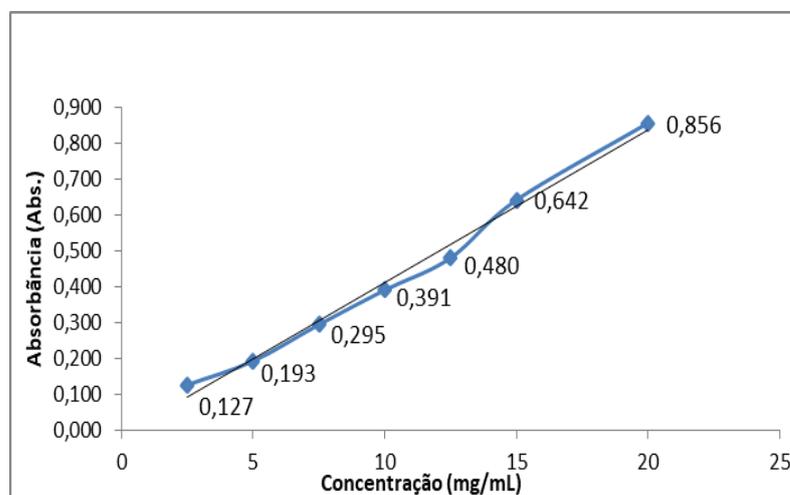
2.3 Preparação do extrato

O extrato de polpa de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. foi obtido utilizando álcool etílico P.A. (95 %). Para a preparação do extrato foram utilizados 10 g de polpa da fruta e 20 mL do solvente. A mistura foi homogeneizada durante 1 hora usando frasco Erlenmeyer em banho ultrassônico (Ultrasonic Cleaner modelo PS – 20) a uma frequência de 40 KHz e temperatura de 40 °C. O sobrenadante foi utilizado nas análises.

2.4 Fenóis totais

Para determinação do teor de compostos fenólicos totais do extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. foi utilizado o reagente de Folin - Ciocalteu conforme método de Slinkard e Singleton (1977) com modificações, usando o ácido gálico como composto fenólico padrão, nas concentrações de 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; e 20 µg/mL, para construir uma curva de calibração (Figura 1).

Figura 1. Curva de Calibração do Ácido Gálico.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Foram preparadas soluções em etanol (1,0 mg/mL e 5,0 mg/mL) do extrato da amostra. Para o ensaio, foram colocados em eppendorfs de 1,5 mL, 100 µL de volume de solução do extrato da amostra (Concentração final da amostra 100,0 µg/mL), 820 µL de água destilada e 20 µL do reagente de Folin – Ciocalteu e agitados durante 1 min. Em seguida foi adicionado 60 µL de uma solução de carbonato de sódio a 15 %.

Após a adição do carbonato de sódio, os tubos foram agitados por 30 segundos, permanecendo, em seguida, a mistura em repouso por 2 horas, protegida da luz. Terminado o período de reação, 200 µL da mistura foi transferida para placas de 96 poços e a absorbância foi medida a 760 nm. Todas as determinações foram realizadas em triplicata. A equação da curva de calibração do padrão ácido gálico foi: $y = 0,0425x - 0,0138$, com o coeficiente de correlação de $R^2 = 0,9904$, onde x é a concentração de ácido gálico e y é a absorbância a 760 nm. Os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (GAE) por 100 g da amostra.

2.5 Potencial antioxidante pelo método do radical DPPH

O potencial antioxidante do extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. foi determinado pelo método fotocolorimétrico *in vitro* por sequestro do radical livre estável DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) (Mensor et al., 2001). Em eppendorfs de 1,5 mL adicionaram-se 450 µL da solução de DPPH em 50 µL de soluções do extrato nas concentrações de 5; 1; 0,5 e 0,1 µg/mL. A mistura ficou sob agitação em aparelho ultrassônico durante 30 minutos, protegida da luz. Em seguida 200 µL foram transferidos para placa de 96 poços e a absorbância foi detectada em espectrofotômetro Elisa UV-Vis a 517 nm. Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

A solução de DPPH possui uma coloração roxa intensa, o potencial antioxidante de uma amostra pode ser visualizado pelo progressivo descoloramento da solução de DPPH, após o tempo de reação ao abrigo da luz. Como branco utilizou-se álcool etílico P.A. (95 %). Como controle negativo utilizou-se a mistura de 450 µL da solução de DPPH com 50 µL de álcool etílico e como controle positivo utilizou-se o ácido ascórbico nas concentrações de 1; 2; 3 e 4 µg/mL (50 µL) com 450 µL da solução de DPPH. A amostra do presente estudo teve sua CE_{50} determinada, ou seja, a concentração do antioxidante necessária para reduzir em 50 % o radical DPPH inicial da reação. Os resultados da CE_{50} , definida como Concentração

Efetiva, foram expressos em $\mu\text{g/mL}$. A CE_{50} representa uma das maneiras muito utilizada para expressar o potencial antioxidante de uma amostra usando o método do DPPH.

2.6 Atividade antibacteriana

2.6.1 Preparo das cepas bacterianas

Para a realização do presente estudo, foram utilizadas quatro cepas ambientais, sendo duas de *Escherichia coli* e duas de *Klebsiella pneumoniae*. Estas cepas foram isoladas uma de cada espécie, de amostras de água da Lagoa das Timbaúbas e do Rio Salgado, localizados na cidade de Juazeiro do Norte - CE. Além dessas, foi feito uso também das cepas padrão de *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* ATCC 14028 e *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. As linhagens padrão (ATCC) foram obtidas do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Cariri.

As linhagens bacterianas foram cultivadas em placas contendo Brain Heart Infusion (BHI) ágar e incubadas por um período de 18 - 24 horas a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$. Transcorrido esse período, procedeu-se à padronização do inóculo, no qual uma fração das colônias foram suspensas em solução salina estéril, a fim de obter uma suspensão com turvação correspondente ao padrão 0,5 da escala McFarland, equivalente a uma concentração de aproximadamente 1×10^8 unidades formadoras de colônia por mL (UFC/mL).

Em seguida essa suspensão foi diluída até 1×10^6 UFC/mL em caldo BHI a 10 %, e volumes de $100\ \mu\text{L}$ foram então homogeneizados em placa de microdiluição com 96 poços, acrescido de diferentes concentrações do extrato, resultando num inóculo final de 1×10^5 UFC/mL.

2.6.2 Preparo das amostras

A solução de extrato etanólico (álcool etílico P.A. (95 %)) de polpa de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. foi preparada de forma a obter uma concentração correspondendo a $4096\ \mu\text{g/mL}$, esta se apresentava quatro vezes mais concentrada em relação ao valor desejado para o primeiro poço ($1024\ \mu\text{g/mL}$), uma vez que a junção da solução com o caldo Brain Heart Infusion (BHI) a 10 % resulta no decaimento de 50 % da concentração inicial, e o acréscimo do inóculo bacteriano implica no declínio de 50 % dessa concentração anterior.

A droga antimicrobiana utilizada como controle positivo foi o meropenem, o qual é recomendado para tratar infecções, inclusive por *Klebsiella pneumoniae* (Wu, Huang, Jia, Liu, & Wan, 2020).

O meropenem tem um espectro de atividade alargado, com indicação no tratamento da maior parte das infecções provocadas por bactérias gram-positivas e gram-negativas (Sousa, Oliveira, Lima, Gurgel, & Farias, 2016). A droga foi testada, frente à forma planctônica, nas concentrações de 1024 a 1 µg/mL.

2.6.3 Avaliação antibacteriana e determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A avaliação da atividade antibacteriana do extrato de polpa de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. e da droga selecionada foi realizada conforme indicado pela norma M7-A6 com modificações, fornecida pelo Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI/NCCLS (NCCLS, 2003).

As placas de microdiluição inicialmente tiveram seus 96 poços preenchidos por 100 µL do caldo BHI a 10 %. Após esse procedimento, os poços relativos a primeira coluna receberam 100 µL da solução do extrato. Por meio de uma micropipeta monocanal, foram feitas diluições seriadas a partir da concentração inicial. Tais diluições resultaram no decaimento sucessivo de 50 % da concentração em relação ao poço anterior. Os testes foram realizados em triplicata. Como controle positivo do teste foi utilizado 100 µL de BHI a 10 % acrescido de 100 µL do inóculo bacteriano. E como controle negativo foi utilizado 100 µL de BHI adicionado de 100 µL do extrato.

As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C durante 24 horas (Javadpour et al., 1996). Por meio de interpretação visual, a leitura e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) deram-se considerando a menor concentração do produto em teste capaz de inibir o crescimento do micro-organismo. A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração onde não houve crescimento bacteriano. Como revelador, foi adicionado em cada poço, 25 µL de resazurina sódica preparada em água destilada estéril na concentração de 0,01 %, por um período de uma hora em temperatura ambiente.

A resazurina facilita examinar a presença do crescimento microbiano, podendo ser detectado por meio da interpretação visual, visto que a cor vermelha indica crescimento bacteriano e a cor azul inibição do crescimento. Dessa forma foi determinada a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento bacteriano.

3. Resultados e Discussão

3.1 Compostos fenólicos totais e potencial antioxidante

No presente estudo, verificou-se que o teor de compostos fenólicos totais encontrados no extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. (Tabela 1), foi maior que os obtidos por Teixeira (2015) para os frutos de araçazeiro (*P. cattleianum* Sabine) de coloração vermelha (genótipos AR9, AR19 e AR29) e amarela (genótipos AR27, AR46 e AR72), o qual verificou um teor total de compostos fenólicos variando de 606,67 (AR9) a 689,67 mg GAE.100 g⁻¹ fruto (AR29).

Tabela 1. Teor de fenóis totais e potencial antioxidante do extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC.

Fenóis totais (mg GAE/100 g da amostra)	CE ₅₀ (µg/mL) DPPH
1211	7,769 ± 1,14

Fonte: Dados da pesquisa. CE₅₀: Concentração efetiva.

Cunha (2014) também obteve valores inferiores ao desse estudo para o extrato de araçá-morango (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*), cujo teor encontrado foi de 463,75 ± 23,68 mg GAE /100 g de amostra. Os resultados alcançados por Melo (2019) para frutos de araçá vermelho, também foram menores que o desse trabalho. O conteúdo desses compostos em alimentos pode variar conforme fatores como genética da planta, forma de cultivo, composição do solo, maturidade do fruto, entre outros (Faller & Fialho, 2009).

De acordo com classificação apontada por Vasco, Ruales e Kamal-Eldin (2008) para o conteúdo fenólico, é possível afirmar que o araçá em estudo possui quantidades elevadas de compostos fenólicos totais, sendo assim, sua ingestão contribui para manutenção de um organismo saudável, e, portanto, é importante estimular a população a conhecer melhor e consumir essa fruta ou produtos obtidos a partir dela.

A Tabela 1 também apresenta o potencial antioxidante do extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC., determinado pelo ensaio DPPH. O ensaio utilizando DPPH avalia a capacidade sequestrante de radicais livres da amostra analisada (Sobral- Souza et al., 2014). Quando uma solução de DPPH é misturada a um substrato que age como um doador de

hidrogênio, uma forma não radicalar estável do DPPH é obtida com uma simultânea mudança de coloração do violeta para o amarelo (Szabo et al., 2007 como citado em Caldas, 2011).

Os resultados foram expressos em CE_{50} ($\mu\text{g/mL}$) que corresponde à quantidade de extrato necessário para reduzir o radical DPPH em 50 %, portanto quanto menor o valor da CE_{50} melhor é a capacidade antioxidante do extrato (Possa, 2016).

Na análise dos resultados, é possível inferir que o extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. apresentou potencial antioxidante maior quando comparado com outras espécies de araçá. Em estudos de Possa (2016), para o extrato de araçá amarelo e araçá vermelho foi obtido CE_{50} de 393,60 e 363,24 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Valores de EC_{50} (51,01 $\mu\text{g/mL}$ e 56,98 $\mu\text{g/mL}$) das amostras de óleo das sementes de araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) e amarelo (*Psidium cattleianum* var. *lucidum*) (Mayer, 2015), também revelaram menor potencial antioxidante do que o desse estudo. Ressaltando que, teoricamente, quando o EC_{50} mais se aproxima de zero, melhor o desempenho como antioxidante da amostra analisada (Mayer, 2015). Dessa forma o extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. apresentou um potencial antioxidante bastante eficaz.

A espécie *Psidium brownianum* Mart. ex DC. também expressou maior potencial antioxidante do que frutas como caju e goiaba (Vieira, Sousa, Mancini-Filho, & Lima, 2011), que são popularmente mais conhecidas e consumidas na região do Cariri.

O alto potencial antioxidante do extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. pode ser atribuído ao seu elevado teor de compostos fenólicos. De acordo com Silva, Muniz, Nunomura, Nunomura & Zilse (2013), a presença de compostos fenólicos é considerada responsável pela atividade antioxidante e estatisticamente os valores da CE_{50} estão relacionados com substâncias fenólicas totais presentes nas amostras. Em trabalho de Caldas (2018), os resultados obtidos mostraram que quanto maior o teor de fenólicos totais, menor é a CE_{50} nos ensaios de DPPH e ABTS, ou seja, maior é a capacidade sequestradora de radicais.

Diversos estudos relatam a correlação entre a presença de compostos fenólicos e a atividade antioxidante dos extratos (Santos & Caldas, 2019; Canuto, Xavier, Neves, & Benassi, 2010; Fetter, Vizzotto, Corbelini, & Gonzalez, 2010; Sobral-Souza et al., 2014; Vanin, 2015; Moraes, Ferreira, Souza, & Moreira, 2020).

A capacidade antioxidante dos compostos fenólicos está associada à presença de seus grupamentos hidroxila, esses são capazes de doar íons H^+ para os radicais livres (Melo, 2019), o hidrogênio da hidroxila se combina ao radical livre presente no organismo ou no alimento e inativa-o (Mayer, 2015). Os compostos fenólicos também atuam quelando metais de

transição, como o Fe^{2+} e o Cu^+ , e interrompendo a reação de propagação dos radicais livres na oxidação lipídica (Sucupira, Silva, Pereira, & Costa, 2012).

A determinação de compostos fenólicos totais de frutos se faz importante, uma vez que a presença desses compostos revela informações a cerca da capacidade antioxidante desses alimentos, como apresentado em estudos citados nesse trabalho, assim sua determinação se torna importante dado os benefícios proporcionados à saúde.

3.2 Atividade antibacteriana

Extratos de plantas estão incluídos entre os antimicrobianos naturais mais estudados (Melo, 2019). Em trabalho de Alvarenga e colaboradores (2016), extrato bruto hidroalcoólico da folha de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) foi capaz de inibir o crescimento de *Streptococcus mutans* e *Streptococcus oralis*. Extratos de *Psidium grandifolium* Mart. ex DC. apresentaram atividade contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus* (Bittencourt, 2018).

Para avaliar a capacidade *in vitro* antimicrobiana de um extrato, variados métodos de laboratório podem ser usados. Nesse estudo foi optado pelo método de microdiluição em caldo dado a sua boa reprodutibilidade (Balouiri, Sadiki, & Ibsouda, 2016).

Os resultados da Concentração Inibitória Mínima (CIM) do extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2. Atividade antibacteriana expressa como CIM ($\mu\text{g/mL}$) do extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. e da droga meropenem (Controle positivo).

Micro-organismos	CIM ($\mu\text{g/mL}$) Extrato – Amostra	CIM ($\mu\text{g/mL}$) Meropenem – Controle positivo
Ec PT	512	< 1
Ec RS	512	< 1
Kb PT	256	< 1
Kb RS	256	< 1
Ec ATCC 25922	512	8
St ATCC 14028	128	< 1
Sa ATCC 6538	128	< 1

Fonte: Dados da pesquisa. *Escherichia coli* da Lagoa do Parque das Timbaúbas (Ec PT), *Escherichia coli* do Rio Salgado (Ec RS), *Klebsiella pneumoniae* da Lagoa do Parque das Timbaúbas (Kb PT), *Klebsiella pneumoniae* do Rio Salgado (Kb RS), *Escherichia coli* ATCC 25922 (Ec ATCC 25922), *Salmonella typhi* ATCC 14028 (St ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (Sa ATCC 6538). Controle positivo: meropenem.

A CIM é a menor concentração do agente antimicrobiano que inibe completamente o crescimento visível do micro-organismo testado (Balouiri et al., 2016).

Os valores da CIM expressam que o extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC., demonstrou atividade antibacteriana significativa principalmente contra *Salmonella typhi* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 e *Klebsiella pneumoniae*.

Corroborando com a afirmação, critérios estabelecidos por Holetz, Pessini, Sanches e Cortez (2002), asseguram que o extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. apresentou atividade inibitória contra todas as cepas testadas, e ainda, essa atividade se expressa como moderada contra maioria das cepas bacterianas. Para o autor e colaboradores, extratos de plantas com CIM menores que $100 \mu\text{g/mL}$, apresentam uma boa atividade antimicrobiana; entre 100 e $500 \mu\text{g/mL}$ apresentam moderada atividade, enquanto que entre 500 e $1000 \mu\text{g/mL}$ ela é expressa como fraca, sendo que acima de $1000 \mu\text{g/mL}$, extrato é considerado inativo.

Em trabalho de Morais-Braga e colaboradores (2016), extrato de *P. brownianum* apresentou atividade inibitória contra *Staphylococcus aureus*, com valor de CIM maior que os nossos resultados de $512 \mu\text{g/mL}$. Ainda no mesmo estudo, a espécie apresentou ação sinérgica significativa em combinação com antibióticos contra todas as bactérias testadas.

Em estudo de Melo (2019) extrato de araçá vermelho (*Psidium catteyanum* Sabine), também apresentou atividade inibitória frente às cepas de *Escherichia coli* (ATCC 25922),

Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Bacillus cereus* (ATCC 11778).

Os polifenóis, encontrados em folhas e frutos nativos, podem ter relação direta com a atividade antimicrobiana presente no araçá (Pereira et al., 2017). Os compostos fenólicos podem reagir com a membrana celular e inativar enzimas essenciais e / ou enzimas que formam complexos com íons metálicos, limitando sua disponibilidade ao metabolismo microbiano (Medina et al., 2011).

Braga (2016) apontou que os compostos fenólicos presentes em extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC., foram influentes no potencial antifúngico observado. Para a autora, os extratos avaliados só começaram a mostrar alguma atividade antifúngica quando a concentração de compostos fenólicos no extrato aumentou gradualmente.

Dessa forma a atividade antibacteriana do extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC., pode ter alguma relação com os compostos fenólicos totais presentes no extrato, uma vez que o teor desses fenóis totais se mostrou bem elevado na amostra.

Não foi observada distinção da inibição do crescimento microbiano pelo extrato de araçá em relação às cepas Gram (+) e Gram (-), mesmo a literatura reportando que as bactérias Gram (-) sejam mais resistentes às substâncias antibióticas de origem vegetal do que as bactérias Gram (+), devido, teoricamente, à maior complexidade da parede celular (Bittencourt, 2018).

O meropenem foi utilizado como controle positivo e apresentou efeito inibitório contra todas as cepas testadas. O meropenem é um agente antimicrobiano ativo e eficaz, utilizado como importante recurso terapêutico para o tratamento de infecções graves. É grande o número de trabalhos publicados relatando a atividade antibacteriana e a eficácia clínica deste antibiótico (Mendez, 2007).

Os resultados da CIM do meropenem, o qual foi utilizado como controle positivo, estão expressos na tabela 2. O controle positivo minimiza possíveis erros técnicos, usado para saber se o teste está funcionando, se a cepa está viável ou não.

4. Considerações Finais

A espécie *Psidium brownianum* Mart. ex DC., mostra-se uma fonte rica em compostos fenólicos totais e potencial antioxidante, sendo assim sua ingestão se faz importante, uma vez que dada as suas potencialidades, pode contribuir para manutenção de um organismo

saudável, e, portanto, é importante estimular a população a conhecer melhor e consumir essa fruta ou produtos obtidos a partir dela.

Foi possível perceber também uma relação entre o teor de compostos fenólicos totais e o potencial antioxidante. Essa característica se mostra importante, uma vez que quanto maior o teor de compostos fenólicos na fruta, maior a capacidade antioxidante e, portanto, maior a proteção para o organismo quando frutas como essas são ingeridas.

Os resultados deste trabalho revelam ainda que o extrato de *Psidium brownianum* Mart. ex DC. apresentou efeito inibitório contra todos os micro-organismos testados, porém seu grande potencial para aplicação farmacológica e alimentícia ainda não podem ser confirmadas nesse estudo, dado que sua atividade antimicrobiana se expressa como moderada frente as cepas bacterianas. Dessa forma como sugestões de trabalhos futuros, mais estudos são necessários envolvendo possíveis associações desse extrato com outras substâncias, como forma de potencializar seu uso. E ainda, quanto ao potencial antioxidante, outras técnicas de avaliação são interessantes que sejam aplicadas nos testes.

Referências

Alvarenga, FQ, Mota, BCF, Royo, VA, Laurentiz, RS & Menezes, EV. (2016). Atividade antimicrobiana in vitro das folhas de araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) contra micro-organismos da mucosa oral. *Revista de Odontologia da UNESP*, 45(3), 149-153.

Balouiri, M, Sadiki, M & Ibnsouda, SK. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71–79.

Bittencourt, GM. (2018). *Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de araçá (Psidium grandifolium Mart. ex DC.) obtidos por líquido pressurizado (PLE) e por fluido supercrítico (SFE)* (Dissertação de mestrado). Universidade de São Paulo, Pirassununga, Brasil.

Braga, MFBM. (2016). *Composição química e avaliação da atividade antifúngica de extratos de Psidium guajava L. (goiabeira) e Psidium brownianum Mart. ex DC. (araçá de veado) sobre espécies de Candida* (Tese de doutorado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil.

Brandão, M, Laca-Buendía, JP & Macedo, JF. (2002). *Árvores nativas e exóticas do Estado de Minas Gerais*. Belo Horizonte: EPAMIG.

Caldas, FRL. (2011). *Avaliação das atividades antimicrobiana e antioxidante de óleos essenciais de folhas e inflorescências de Ocimum gratissimum L. (Lamiaceae)* (Dissertação de mestrado). Universidade Regional do Cariri, Crato, CE, Brasil.

Caldas, FRL. (2018). *Composição química e avaliação das atividades antimicrobiana e anti-inflamatória de polens apícolas coletados no litoral sul da Bahia* (Tese de doutorado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brasil.

Campos, LZO. (2010). *Etnobotânica do gênero Psidium L. (Myrtaceae) no Cerrado brasileiro* (Dissertação de mestrado). Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

Canuto, GAB, Xavier, AAO, Neves, LC & Benassi, MT. (2010). Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e sua correlação com a atividade anti-radical livre. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 32(4).

Cunha, DC. (2014). *Avaliação de fitoquímicos e das atividades antioxidante celular e antiproliferativa do suco de araçá-una (Psidium eugeniaefolia) e araçá morango (Psidium cattleianum var. lucidum)* (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, Brasil.

Faller, ALK & Fialho, E. (2009). Disponibilidade de polifenóis em frutas e hortaliças consumidas no Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 43(2), 211-218.

Fetter, MR, Vizzotto, M, Corbelini, DD & Gonzalez, TN. (2010). Propriedades funcionais de araçá-amarelo, araçá- vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine) e araçá-pera (*P. acutangulum* D.C.) cultivados em Pelotas/RS. *Brazilian Journal of Food Technology*, 15, 92-95.

Franzon, RC, Campos, LZO, Proença, CEB & Sousa-Silva, JC. (2009). *Araçás do gênero Psidium: principais espécies, ocorrências, descrição e usos*. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados (Documentos 266).

Holetz, FB, Pessini, GL, Sanches, NR & Cortez, DA. (2002). Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias Instituto Oswaldo Cruz*, 97(7), 1027-1031.

Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará - IPECE. (2017). Anuário Estatístico do Ceará. Acesso em: 30 agosto 2019. Disponível em: <http://www2.ipece.ce.gov.br/publicacoes/anuario/anuario2017/territorio/index.htm>.

Javadpour, MM, Juban, MM, Lo, WC, Bishop, SM, Alberty, JB, Cowell, SM, Becker, CL & McLaughlin, ML. (1996). New antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. *Journal of Medicinal Chemistry*, 39(16), 3107-3113.

Jesus, MCF. (2012). *Levantamento das espécies de restinga utilizadas nas comunidades de Pontal do Ipiranga e Degredo, Linhares, ES* (Dissertação de mestrado). Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, ES, Brasil.

Mayer, R. (2015). *Caracterização físico química das sementes de araçá e potencial antioxidante do óleo das sementes em óleo de girassol induzido à oxidação* (Dissertação de mestrado). Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, Brasil.

Medina, LA, Haas, LIR, Chaves, FC, Salvador, M, Zambiasi, RC, Silva, WP, Nora, L & Rombaldi, CV. (2011). Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. *Food Chemistry*, 128(4), 916-922.

Melo, DW. (2019). *Propriedades físico-químicas e características histoquímicas do araçá vermelho (Psidium cattayanum Sabine)* (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brasil.

Mendez, ASL. (2007). *Estudo de estabilidade do antibiótico meropenem* (Tese de doutorado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Mensor, LL, Menezes, FS, Leitão, GG, Reis, AS, dos Santos, TC, Coube, CS & Leitão, SG. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, 15(2), 127-130.

Moraes, TV, Ferreira, JPG, Souza, MRA & Moreira, RFA. (2020). Atividade antioxidante e conteúdo de compostos fenólicos do chá do caule da *Pereskia aculeata* Miller fresco e armazenado sob congelamento. *Research, Society and Development*, 9(5), 1-10.

Morais-Braga, MFB, Machado, AJT, Carneiro, JNP, Santos, ATL, Sales, DL, Freitas, MA ... Coutinho, HDM. (2015). *Psidium brownianum* Mart. ex DC.: composição fenólica e inibição de virulência fúngica. In *X Simpósio Brasileiro de Farmacognosia. V Simpósio de Plantas Medicinais do Vale do São Francisco*, Juazeiro, BA, Brasil.

Morais-Braga, MFB, Sales, DL, Silva, FS, Chaves, TP, Bitu, VCN, Avilez, WMT, Ribeiro-Filho, J & Coutinho, HDM. (2016). *Psidium guajava* L. and *Psidium brownianum* Mart. ex DC. potentiate the effect of antibiotics against Gram-positive and Gram-negative bacteria. *European Journal of Integrative Medicine*, 8, 683-687.

National Committee for Clinical Laboratory Standards - NCCLS. (2003). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard - Sixth Edition. NCCLS document M7-A6. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania - USA.

Oliveira, AG. (2013). *Diversidade de Myrtaceae das restingas de Conceição da Barra e São Mateus, Espírito Santo, Brasil* (Dissertação de mestrado). Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Pereira, AS et al. (2018). *Metodologia da pesquisa científica*. [e-book]. Santa Maria. Ed. UAB/NTE/UFSM. Acesso em: 19 maio 2020. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/15824/Lic_Computacao_Metodologia-Pesquisa-Cientifica.pdf?sequence=1.

Pereira, ES, Ribeiro, JA, Raphaelli, CO, Camargo, TM, Araújo, VF, Franzon, R & Vizzotto, M. (2017). Compostos bioativos e potencial antioxidante de genótipos de araçá avaliados em

dois ciclos produtivos. *Revista da 14ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa-Congrega Urcamp*, 982-993.

Possa, J. (2016). *Compostos Bioativos e Capacidade Antioxidante de araçás (Psidium Cattleianum Sabine) morfotipo amarelo e vermelho cultivados no Rio Grande do Sul* (Trabalho de conclusão de curso). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil.

Sampaio, RS et al. (2020). Antinociceptive activity of the *Psidium brownianum* Mart ex DC. leaf essential oil in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 135.

Santos, AJ & Caldas, FRL. (2019). Avaliação do Potencial Antioxidante de Geoprópolis Coletadas na Região de Canavieiras da Bahia. In *IV Seminário de Iniciação Científica– IFCE*, Juazeiro do Norte, CE, Brasil.

Silva, ECC, Muniz, MP, Nunomura, RCS, Nunomura, SM & Zilse, GAC. (2013). Constituintes Fenólicos e Atividade Antioxidante da Geoprópolis de Duas Espécies de Abelhas Sem Ferrão Amazônicas. *Química Nova*, 36(5), 628-633.

Slinkard, K, & Singleton, VL. (1977). Total phenol analyzes: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.

Sobral, M, Proença, C, Souza, M, Mazine, F & Lucas, E. (2015). Myrtaceae in *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Acesso em: 07 julho 2019. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil>.

Sobral-Souza, CE, Leite, NF, Cunha, FAB, Pinho, AI, Costa, JGM & Coutinho, HDM. (2014). Avaliação da atividade antioxidante e citoprotetora dos extratos de *Eugenia uniflora* Lineau e *Psidium sobleianum* Proença & Landrum contra metais pesados. *Revista Ciencias de la Salud*, 12(3), 401-409.

Sousa, DCP, Oliveira, AL, Lima, HSM, Gurgel, TL & Farias, AA. (2016). Estudo da utilização do meropenem no hospital universitário Alcides Carneiro - HUAC. In *Anais do Congresso Brasileiro de Ciências da Saúde*, Campina Grande, PB, Brasil, 1.

Souza, CES, Silva, ARP, Gomez, MCV, Rolóm, M, Coronel, C, Costa, JGM, Sousa, AK, Rolim, LA, Souza, FHS & Coutinho, HDM. (2017). Anti-Trypanosoma, anti-Leishmania and cytotoxic activities of natural products from *Psidium brownianum* Mart. ex DC. and *Psidium guajava* var. Pomifera analysed by LC-MS. *Acta Tropica*, 176, 380-384.

Stadnik, A, Oliveira, MIU & Roque, N. (2018). Myrtaceae na Serra Geral de Licínio de Almeida, Bahia, Brasil. *Rodriguésia*, 69(2).

Sucupira, NR, Silva, AB, Pereira, G & Costa, JN. (2012). Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. *UNOPAR Científica. Ciências biológicas e da saúde*, 14(4), 263-269.

Teixeira, AM. (2015). *Estudo fitoquímico de genótipos de araçá (Psidium cattleianum) em seis safras (2008 a 2013)* (Tese de doutorado). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

Vanin, CR. (2015). *Araçá amarelo: atividade antioxidante, composição nutricional e aplicação em barra de cereais* (Dissertação de mestrado). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, PR, Brasil.

Vasco, C, Ruales, J & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111, 816-823.

Vieira, LM, Sousa, MSB, Mancini-Filho, J & Lima, A. (2011). Fenólicos totais e capacidade antioxidante in vitro de polpas de frutos tropicais. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(3), 888-897.

Wu, D, Huang, XT, Jia, C, Liu, J & Wan, Q. (2020). Clinical Manifestation, Distribution, and Drug Resistance of Pathogens Among Abdominal Solid Organ Transplant Recipients With *Klebsiella pneumoniae* Infections. *Transplantation Proceedings*, 52(1), 289-294.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Cícera Josevânia Daniel Cordeiro – 35%

Francisco Rodrigo de Lemos Caldas – 23%

Maria Inês Rodrigues Machado – 12%

Alef Jakson Santos – 10%

Thiago Mielle Brito Ferreira Oliveira – 10%

João Hermínio da Silva – 10%