

## **DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIFÚNGICA, ANTIBACTERIANA E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS DE EXTRATOS DE DIVERSAS VARIEDADES DE PLANTAS VISANDO SUA INCORPORAÇÃO NA PRODUÇÃO DE COSMÉTICOS: resultados preliminares.**

*Gabrieli Senger<sup>1</sup>; Henriquy Aguiar Coelho<sup>2</sup>; José Hilton Bernardino de Araújo<sup>3</sup>*

### **INTRODUÇÃO**

A aplicação da medicina natural tem levado a comunidade científica a investigar a potencialidade de cura de compostos naturais na utilização medicinal (Pereira et al., 2004). Conhecer as aplicações fitoterápicas e a fisiologia das espécies vegetais promove uma maior otimização do uso dos princípios ativos presentes nas plantas. Com o aumento de casos ligados a doenças infecciosas tem sido de extrema importância à busca de novas substâncias no combate a esses microorganismos. Alguns fungos podem ser inofensivos, no entanto, algumas espécies estão apresentando riscos à saúde do ser humano e também prejuízos em indústrias agrícolas. É importante salientar que muitas pesquisas sobre frutos, flores e folhas, principalmente da flora nativa, baseiam-se na determinação da atividade antioxidante e dos compostos fenólicos. O dano oxidativo de biomoléculas pode levar à inativação enzimática, mutação, ruptura de membrana, ao aumento na aterogenicidade de lipoproteínas plasmáticas de baixa densidade e à morte celular. Estes efeitos tóxicos do oxigênio têm sido associados ao envelhecimento e ao desenvolvimento de doenças crônicas, inflamatórias e degenerativas (CERQUEIRA et al, 2007).

### **PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS**

A escolha das plantas para incorporação na formulação de novos cosméticos foi feita com a ajuda dos professores Dr. Marcelo Galeazzi Caxambú e Dr. José Hilton Bernardino de Araújo, de acordo com a disponibilidade no local e período de frutificação e floração. Todas foram coletadas na Universidade Tecnológica Federal

---

<sup>1</sup>Técnico Integrado em Informática UTFPR - Câmpus Campo Mourão. E-mail: gabiisenger@gmail.com

<sup>2</sup>Técnico Integrado em Informática UTFPR - Câmpus Campo Mourão. E-mail: aguiar.hc@gmail.com

<sup>3</sup>Orientador. Engenharia Ambiental UTFPR - Câmpus Campo Mourão. E-mail: jaraujo@utfpr.edu.br

do Paraná (UTFPR) – câmpus Campo Mourão, sendo elas *Allamanda cathartica* L., *Eugenia uniflora* L. (Pitanga), *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira), *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville (Barbatimão), *Bromelia balansae* Mez (Gravatá).

**Preparação do Extrato:** As folhas de gravatá, pitanga, aroeira e as folhas e flores de *A. Cathartica* foram secas em estufa com circulação de ar forçada, a 45 °C por 2 horas. Após secas e maceradas foram armazenadas por 7 dias em etanol 99,5%, para a extração dos princípios ativos. As cascas de barbatimão foram secas por 2 horas a 50 °C, em seguida maceradas em almofariz e gral sendo armazenadas para extração nos seguintes solventes, mistura hidroalcoólica a 70%, etanol a 99,5% e propileno glicol durante 3 semanas. O extrato de todas as plantas foram evaporados e liofilizados.

**Atividade antimicrobiana:** Os extratos utilizados foram diluídos em etanol 70% obtendo-se 5 concentrações: 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 e 2,0% (p/v) . Foram usadas as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiela sp.*

A atividade foi constatada pela técnica de difusão em disco de papel descrito pela metodologia de Kirby-Bauer. Ao final os discos de papel de área equivalente a 20mm<sup>2</sup> receberam 20 µL das soluções do extrato resultando nas concentrações de 0,001mg.mm<sup>-2</sup>, 0,005mg.mm<sup>-2</sup>, 0,01mg.mm<sup>-2</sup>, 0,015mg.mm<sup>-2</sup> e 0,02mg.mm<sup>-2</sup> que posteriormente foram aplicadas às placas e incubadas a 37 °C durante 24 horas em posição invertida. Foram realizados três ensaios independentes para cada um dos três testes. A amoxicilina foi utilizada como controle positivo.

**Testes antifúngicos:** Foi utilizado extrato liofilizado de *A. cathartica* L. sendo diluído em água para a obtenção de 3 concentrações: 1,0; 1,5 e 2,0% (p/v).

Utilizou-se o método adaptado de AUER & BETTIOL (1986) e STANGARLIN et al. (1999). O extrato liofilizado foi diluído em água destilada e em seguida incorporado ao meio de cultivo BDA (Batata-Dextrose-Ágar) nas concentrações pré-estabelecidas. Após uma hora deste meio ter sido vertido nas placas de *Petri*, foram inoculados esporos dos patógenos *Penicillium chrysogenum* e *Aspergillus niger*, e incubadas a temperatura ambiente no escuro durante 7 dias. Os controles continham apenas o meio BDA. Os testes foram realizados em triplicada em duas etapas diferentes.

**Quantificação dos compostos fenólicos individuais:** A análise de cromatografia líquida de alta eficiência foi utilizada para quantificar a presença de

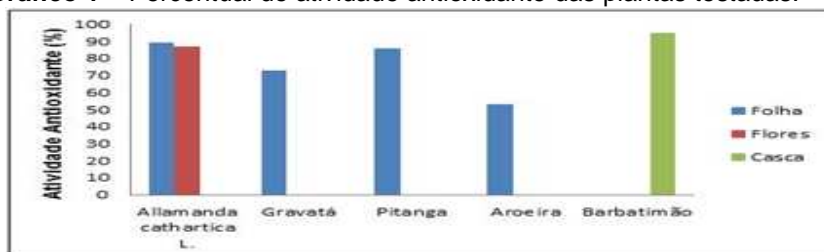
compostos fenólicos individuais. Foi utilizado um sistema Dionex Ultimate 3000 HPLC (Dionex, Idstein, Alemanha) equipado com uma bomba Ultimate 3000, coluna do compartimento de amostra Ultimate 3000, detector de fotodiodo Ultimate 3000 e software Chromeleon para qualificação e quantificação dos compostos fenólicos. Foi utilizado uma coluna de fase reversa Acclaim® 120, C18 5mm 120 A (4,6 mm x 250 mm) para a separação dos compostos fenólicos. Os padrões de ácido gálico, ácido clorogênico, ácido cafêico, ácido p-cumárico, ácido ferrúlico, rutina, catequina, miricetina, quercetina, kaempferol foram utilizados para a identificação e quantificação dos compostos fenólicos.

**Determinação da Atividade Antioxidante:** Foram utilizadas as concentrações 0,005 g/mL, 0,01 g/mL e 0,04 g/mL dos extratos, posteriormente diluídos em álcool metílico, homogeneizados e centrifugados. A atividade antioxidante (AA) total foi avaliada utilizando o radical DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) de acordo com o método descrito por Mensor et al. (2001) com modificações. A inibição do radical livre DPPH (em %) foi calculada pela equação:  $AA\% = 100 - [(Aa - Ab) \times 100] / Ac$ . Onde Aa = absorvância da amostra; Ab = absorvância do branco; Ac = absorvância do controle.

## RESULTADOS

**Atividade Antioxidante:** No gráfico 1 observamos que o melhor potencial foi 95% para a casca do barbatimão e 89% para as folhas de *A. Cathartica*, sendo semelhante aos valores encontrados por Goes et al (2010).

**Gráfico 1** – Percentual de atividade antioxidante das plantas testadas.



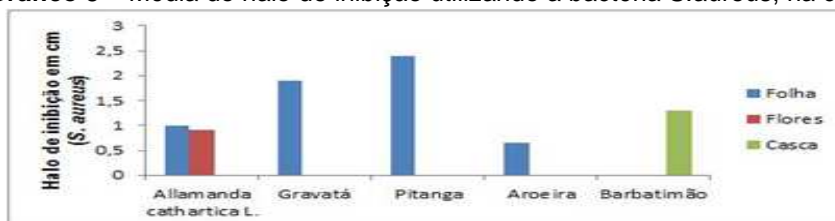
**Atividade Antimicrobiana:** É possível avaliar o quanto o extrato pode inibir o crescimento de determinado microorganismo. Os resultados obtidos demonstraram

que a planta que possui o maior potencial antimicrobiano para as bactérias *S. aureus* e *E. coli* é a Pitanga, tendo um halo médio de 2,4 cm e 2,0 cm de diâmetro, respectivamente (Gráficos 2, 3 e 4).

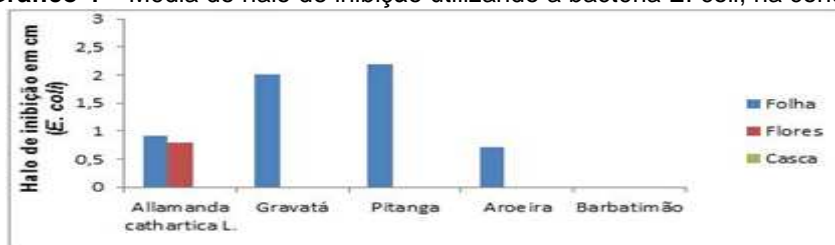
**Gráfico 2** – Média do halo de inibição a bactéria *Klebsiellasp.*, na concentração de 2%(p/v).



**Gráfico 3** – Média do halo de inibição utilizando a bactéria *S.aureus*, na concentração de 2%(p/v).



**Gráfico 4** – Média do halo de inibição utilizando a bactéria *E. coli*, na concentração de 2% (p/v).



**Atividade Antifúngica:** Após incubação de 7 dias as placas de Petri foram retiradas para análise dos resultados. O extrato bruto das folhas de *Allamanda cathartica* L. nas 3 concentrações diferentes demonstrou-se eficiente, inibindo totalmente o crescimento dos fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium chrysogenum*. Não foi determinada a atividade antifúngica para as outras plantas.

**Identificação dos compostos fenólicos:** Foram identificados diversos compostos fenólicos nos extratos das plantas. Dentre elas a que mais apresentou fenóis foi o barbatimão, se destacando entre eles o ácido ferrúlico, ácido p-cumárico, e ácido cafeico. Observou-se a presença de ácido clorogênico para os extratos de folhas

e flores de *A. cathartica*. Os compostos fenólicos são os principais responsáveis pela neutralização de radicais livres.

## CONCLUSÃO

Este trabalho comprovou a atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de folhas de *Schinus terebinthifolius Raddi* (Aroeira), *Eugenia uniflora* L. (pitanga), *Bromelia balansae Mez* (gravatá), folhas e flores de *Allamanda cathartica* L., casca da *Stryphnodendron adstringens (Mart.) Coville* (barbatimão). Sendo que o barbatimão e a *A. cathartica* apresentaram os melhores resultados para a atividade antioxidante. Além disso as folhas de gravatá e pitanga demonstraram-se muito eficientes na inibição dos microorganismos testados. A determinação dos compostos fenólicos mostrou que o barbatimão possui uma maior quantidade de substâncias. Esses compostos são importantes para o corpo humano pois servem como agentes protetores de reações oxidativas indesejáveis no organismo, protegendo contra efeitos maléficos do ambiente e de radicais livres. Tendo em vista o potencial antioxidante e a quantidade de compostos fenólicos dessas plantas, dizemos que elas estão potencialmente favoráveis a produção de cosméticos.

## REFERÊNCIAS

- PEREIRA, R. S.; SUMITA, C. S.; FURLAN, M. R.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. **Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária.** Rev. Saúde Pública [online], vol.38, n.2, p. 326-328., 2004.
- CERQUEIRA, Fernanda Menezes et al. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Quím. Nova**, v. 30, n. 2, p.441-449, 2007.
- GOES, J. A., SANTOS B. F., MACHADO, M., S., MALHEIROS, A., SILVA, R. M. L., **Extrato de Flores de *Allamanda cathartica* L. como Potencial Fito complexo Antioxidante.** Anais do 24<sup>o</sup>. Congresso Brasileiro de Cosmetologia, 2010 - São Paulo.
- MENSOR L.L.; MENEZES F.S.; LEITÃO G.G.; REIS A.S.; dos SANTOS T.C.; COUBE C.S.; LEITÃO S.G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy Research**, v.15, p.127-130, 2001.