

Capítulo 5

Susceptibilidade de extratos vegetais de *Schinopsis brasiliensis* Engl. frente a *Pseudomonas* spp.

Rayane Patrícia Silva^{*1}; Roberta Torres Careli²; Izabella Carolina de Oliveira Ribeiro³; Francielle Patrícia Evangelista Mendes¹; Eduardo Robson Duarte⁴

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar extratos vegetais de *Schinopsis brasiliensis* Engl. (pau preto) provenientes do Norte de Minas Gerais em diferentes concentrações com atividade antibacteriana frente a estirpes de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 e duas estirpes de *Pseudomonas* spp. isoladas de setores de ordenha bovina. Os extratos foram primeiramente filtrados em membrana milipore e as subamostras obtidas foram designadas à determinação de matéria seca. Os extratos foram ajustados para a menor concentração de 150 mg/mL. A partir desta solução foram preparadas outras quatro nas concentrações de 75; 37,5; 18,75 e 9,37 mg/mL. Foi feita análise fatorial e de regressão a significância de 5%. Os resultados mostraram que, quanto maior a concentração do extrato maior o halo de inibição bacteriano, apresentando diferença estatística ($P < 0,05$). Foram observadas médias de halos de 11,5 mm na maior concentração testada, o que comprova a eficiência antimicrobiana do extrato de pau preto na concentração de 150 mg/mL. Pode-se verificar que o extrato desta planta é eficiente para inibir a estirpe *Pseudomonas* isoladas dos ambientes de ordenha bovina.

Palavras-chave: Atividade antibacteriana. Ordenha bovina. Plantas do Cerrado.

Introdução

O leite por ter uma composição muito rica em nutrientes torna-se vulnerável ao ataque de um grande número de microrganismos (YAMADA, 2011). A contaminação do leite pode ocorrer durante a ordenha, mas as principais fontes de contaminação são os equipamentos utilizados durante a manipulação, transporte, processamento e o armazenamento (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

¹ Graduada em Engenharia de Alimentos, Instituto de Ciências Agrárias/UFMG

² Professora Associada, Instituto de Ciências Agrárias/UFMG

³ Doutoranda em Ciências Veterinárias/UFLA

⁴ Professor Associado, Instituto de Ciências Agrárias/UFMG

*Autora para correspondência: rayaneppsilva@gmail.com

As proteases produzidas por microrganismos psicrotróficos podem tornar o leite instável ao calor (KOHLMANN *et al.*, 1991). Os principais prejuízos industriais marcantes ocasionados pelo alto efetivo microbiano são: acidificação e coagulação, produção de gás, gelificação, sabor amargo, coagulação sem acidificação, aumento da viscosidade, alteração de cor, produção de sabores, odores variados, dentre outros, os quais diminuem a vida de prateleira e o rendimento industrial (GIGANTE, 2004).

Os vegetais são uma excelente fonte de busca de novas drogas antimicrobianas, tendo em vista que a diversidade molecular dos produtos naturais é muito superior àquela derivada dos processos de síntese química (NOVAIS *et al.*, 2003).

Schinopsis brasiliensis Engl. pertence à família Anacardiaceae sendo o principal representante, do gênero *Schinopsis*, nativo do Brasil. É uma espécie característica da caatinga e de grande valor econômico para a região nordestina. No levantamento bibliográfico a cerca das propriedades fitoquímicas da espécie foi assinalado o isolamento de vários metabólitos secundário, destacando-se os terpenóides, lignanas e polifenóis (SARAIVA, 2007).

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito inibitório de *Schinopsis brasiliensis* (pau preto) provenientes do cerrado do Norte de Minas Gerais em diferentes concentrações frente a estirpes de *Pseudomonas* isoladas de ambientes de ordenha bovina.

Material e métodos

Os experimentos foram realizados no laboratório de Microbiologia Aplicada do Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), campus Montes Claros, MG.

Foram avaliadas duas estirpes de *Pseudomonas* spp. isoladas de amostras de leite cru de tanques de refrigeração dos setores de ordenha da Fazenda Experimental do Instituto de Ciências Agrárias da UFMG e do município de Bengo, localizado na região Norte de Minas Gerais. Além das estirpes selvagens, avaliou-se uma cultura padrão de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Foram utilizados extratos de *Schinopsis brasiliensis* Engl. (Pau preto), de plantas coletadas na cidade de Montes Claros, MG. O extrato aquoso foi produzido, adicionando-se 100 mL de água destilada a 10 g da espécie vegetal e aquecido em banho-maria a 40 °C durante 60 minutos. O extrato etanólico foi obtido submergindo 100 g do material vegetais em 1000 mL de etanol PA. Em recipientes de vidro âmbar, conservados em local escuro em temperatura ambiente durante dez dias (NERY *et al.*, 2010, com modificações).

Esses extratos foram primeiramente filtrados em membrana milipore ($\emptyset = 0,2 \mu\text{L}$) de celulose, em seguida, subamostras das soluções obtidas foram designadas à determinação de matéria seca, a $105 \text{ }^\circ\text{C}$ para cálculo das concentrações a serem testadas (CUNNIF, 1995). Após a determinação da matéria seca os extratos foram ajustados para a menor concentração de 150 mg/mL . A partir desta solução foram preparadas outras quatro nas concentrações de 75 ; $37,5$; $18,75$ e $9,37 \text{ mg/mL}$.

A atividade *in vitro* dos extratos vegetais sobre cada isolado bacteriano foi determinada de acordo com o NCCLS (2003). Em placas de Ágar Mueller Hinton foram inoculados $200 \mu\text{L}$ com a solução do inóculo e espalhadas com o auxílio de swabs estéreis. Sobre a superfície desse meio foram colocados discos ($\emptyset = 6 \text{ mm}$) de papel filtro esterilizados a $121 \text{ }^\circ\text{C}$ por 15 minutos. Os discos foram acrescidos ao Agar e adicionados $0,10 \mu\text{L}$ da solução dos extratos vegetais, previamente preparados e homogeneizados em vórtex durante um minuto. As placas foram incubadas a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ e após 24 horas os halos de inibição foram medidos em mm, conforme descrito por Tagg e Mc Given (1971). Os resultados obtidos foram avaliados em análise fatorial e análise de regressão considerando a significância de 5%, no programa estatístico SAEG.

Resultados e discussão

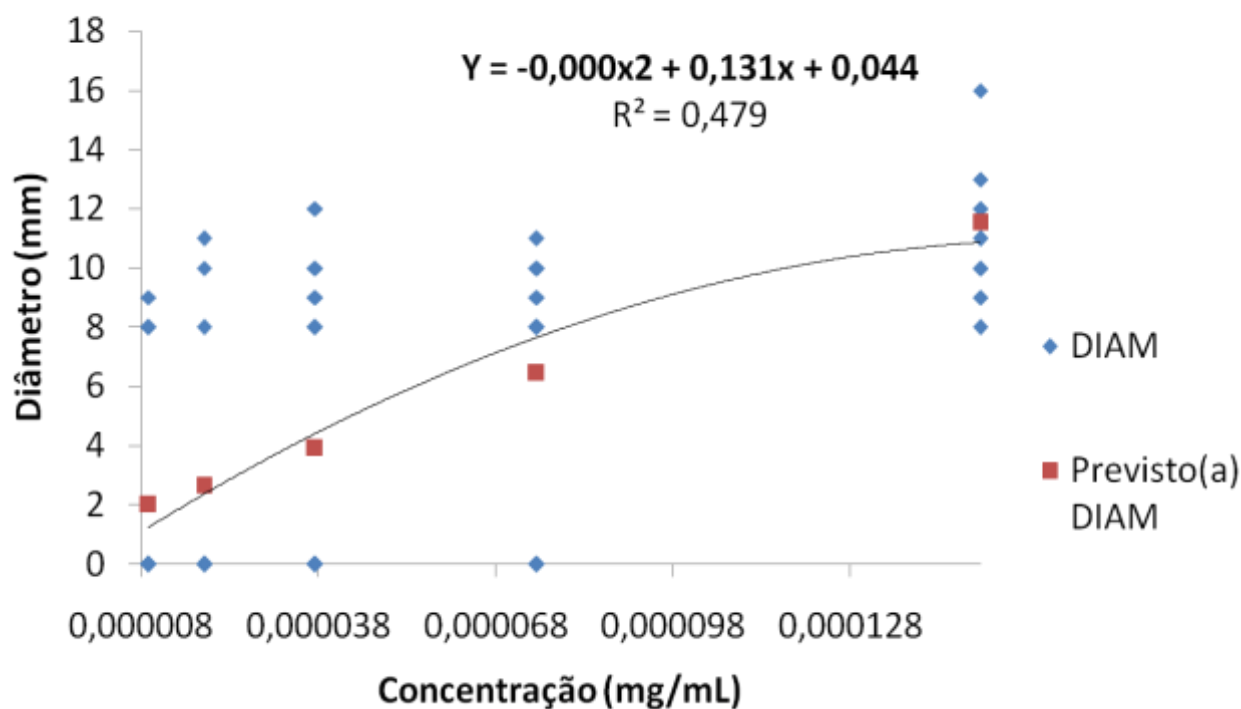
A análise fatorial não apresentou diferença estatística entre as cepas e tratamentos ($P > 0,05$), tendo significância somente para a variável concentração ($P < 0,05$). Nesta variável foi realizada análise de regressão do segundo grau e apresentou $R^2 = 47,9 \%$ (Figura 1).

De acordo com os dados da Figura 1, verificou-se que quanto maior a concentração do extrato maior o halo de inibição bacteriano, apresentando diferença estatística ($P < 0,05$). Foram observadas médias de halos de $11,5 \text{ mm}$ na maior concentração testada, o que comprova a maior eficiência antimicrobiana do extrato de pau preto na concentração de 150 mg/mL .

Segundo Saraiva (2007) as plantas *C. pyramidalis* Tull. e *Schinopsis brasiliensis* Engl. apresentaram ótima atividade antimicrobiana frente a *P. aeruginosa* apresentando concentração mínima inibitória (CMI) igual a $125 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Já o extrato metanólico da folha de *S. brasiliensis*, obteve halos expressivos frente às cepas de *S. aureus* Multirresistentes da ordem de 24 mm e bactérias padrões Gram positivas e Gram negativas da ordem de 22 mm .

Estudos também relataram que a atividade antimicrobiana de extrato metanólico da folha de *Schinopsis brasiliensis* nas concentrações de 100 mg/mL , 50 mg/mL , 25 mg/mL e $12,5 \text{ mg/mL}$ frente a *P. aeruginosa* confirmam conforme a classificação descrita por Alves (2000) um extrato muito ativo com halos de inibição na ordem de 22 mm a 28 mm de diâmetro (CASTRO e PISCIOTTANO, 2010).

Figura 1 - Estimativas das equações de regressão do halo de inibição (mm) das estirpes bacterianas em função da concentração dos extratos de *Schinopsis brasiliensis*.



Fonte: Dos autores, 2019.

Desta forma, os extratos testados neste estudo com maior halo de inibição (11,5 mm) são segundo considerados Alves (2000) considerados parcialmente ativos. Fato este, que pode ser explicado principalmente pela presença de taninos e flavonóides, por serem substâncias ativas responsáveis pela eficiência antibacteriana.

Conclusão

Neste estudo pode-se verificar que os extratos vegetais de *Schinopsis brasiliensis* (pau preto) na concentração de 150 mg/mL possuem maior atividade antimicrobiana frente a estirpes *Pseudomonas aeruginosa* e *Pseudomonas* isoladas de leite cru produzidos em propriedades rurais do Norte de Minas Gerais.

Referências

- ALVES, T. M. A., *et al.* Biological Screening of Brazilian Medicinal Plants. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n.3, p. 367-373, 2000.
- CASTRO, R. H. A.; PISCIOTTANO, M. N. C. **Atividade antimicrobiana do estrato metanólico de *Schinopsis brasiliensis* Engl.** In: XVIII Conic e II Coniti, 2010, Pernambuco. Disponível em: http://www.contabeis.ufpe.br/propesq/images/conic/2010/conic/n_pibic/40/104031139SNP.pdf. Acesso em: 19 nov. 2014.
- CUNNIFF, P. (Ed.) **Official methods of AOAC International**. AOAC International, ed. 16, v. 1, n. 1, 1995.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2002. 182 p.
- GIGANTE, M. L. Importância da qualidade do leite no processamento de produtos lácteos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 1., 2004, Passo Fundo. **Anais eletrônicos...** Passo Fundo: UPF, 2004. CD-ROM.
- NCCLS. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.
- NERY, P. S. *et al.* Effect of *Anacardium humile* on the larval development of gastrointestinal nematodes of sheep. **Veterinary Parasitology** v. 171, n. 1, p. 361-364, 2010.
- NOVAIS, T. S. *et al.* Atividade antibacteriana em alguns extratos de vegetais do semi-árido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 2, p. 05-08, 2003.
- KOHLMANN, K. L. *et al.* Production of proteases by psychrotrophic microorganisms. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3275 – 3283, 1991.
- SARAIVA, A. M. **Estudo Farmacognóstico e Determinação da Atividade Biológica de *Caesalpinia pyramidalis* Tull. e *Schinopsis brasiliensis* Engl. frente a cepas de *Staphylococcus aureus* MRSA Multirresistentes**. 2007. 186 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.
- TAGG, J. R.; MC. GIVEN, A.R. Assay sistem for bacteriocins. **Applied Microbiology**, v. 21, n. 1, p. 943. 1971.
- YAMADA, A. K. **Rastreamento de contaminações microbiológicas e resíduos de proteína em indústrias de laticínios**. 2011. 76f. Dissertação (Mestrado em ciência animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2011.