

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ÓLEOS EXTRAÍDOS DE AÇAÍ E DE PUPUNHA SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE *Pseudomonas aeruginosa* E *Staphylococcus aureus*

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF AÇAÍ AND PUPUNHA OILS ON THE DEVELOPMENT OF *Pseudomonas aeruginosa* AND *Staphylococcus aureus*

André Luiz MELHORANÇA FILHO¹; Maria Renata Rocha PEREIRA²

1. Professor Adjunto, Universidade Federal do Acre, Cruzeiro do Sul, AC, Brasil; 2. Professora Assistente, Faculdade de Tecnologia do Estado de São Paulo, FATEC, Capão Bonito, SP, Brasil. andreluizufac@gmail.com .

RESUMO: O uso de plantas medicinais como forma de combate a patologias humanas vem se tornando uma prática constante, pois a presença de algumas substâncias possibilita a produção de eficientes medicamentos. O presente trabalho teve o objetivo de avaliar o potencial antimicrobiano do óleo da semente de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e da casca, polpa e semente de duas espécies de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth e *Bactris dahlgreniana* Glassman), nativas da região Amazônica, no desenvolvimento das bactérias *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*. Os óleos utilizados foram extraídos em soxhlet e impregnados em discos de celulose (6 mm). Os tratamentos utilizados foram os óleos de sementes de açaí e de sementes de duas variedades de pupunha e também da casca e polpa, os quais foram extraídos em soxhlet e utilizou-se como controle, antibióticos e n-hexano. Após 24 e 48 horas de incubação, as bactérias foram submetidas a leituras dos halos de inibição. Não foi verificada a presença de halo de inibição com a utilização dos óleos de açaí e pupunha sobre o desenvolvimento de *P. aeruginosa*. Observou-se efeito antimicrobiano do óleo das sementes de açaí e da casca das duas variedades de pupunha em *S. aureus*, devido presença de halo de inibição. Após 48 horas os tratamentos com óleo da polpa e da semente das duas espécies de pupunha não apresentaram halo de inibição, bem como o da casca de *B. gasipaes*, já a casca de *B. dahlgreniana* proporcionou inibição de 10 mm. Os halos de inibição apresentados pelos antibióticos usados como controle foram maiores nas duas bactérias, atingindo diâmetro de até 39 mm com a aplicação de penicilina após 48 horas.

PALAVRAS CHAVE: Bioprospecção. *Euterpe oleracea*. *Bactris* sp. Bacterias.

INTRODUÇÃO

Desde o início das civilizações, o homem se dedicou a conhecer e cultivar as espécies vegetais que poderiam auxiliá-lo no combate e tratamento de patologias que viessem acometê-lo. Os indígenas do Brasil e da América são exemplos claros de tal prática (NOVAES et al., 2003). Atualmente as espécies vegetais oleaginosas estão sendo alvo de diversos trabalhos que comprovam sua eficiência antimicrobiana (FERRONATO et al., 2007). Alguns exemplos de espécies vegetais com potencial de uso são o óleo resina da copaíba, que apresenta uma atividade antimicrobiana significativa para diversos microrganismos patogênicos ao homem (PACKER; LUZ, 2007; VASCONCELOS et al., 2008) e também a *Baccharis dracunculifolia* D.C. e a *Baccharis uncinella* D.C., conhecidas popularmente por alecrim-do-campo e vassoura respectivamente, entram para a lista das plantas medicinais que a muito tempo são estudadas pela ciência.

Dentre as plantas, com destaque de uso no conhecimento popular, principalmente da região Norte, o açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), palmeira nativa da Amazônia que é usada principalmente para o consumo de seus produtos que são o palmito

e o suco extraído de seus frutos que se destaca pelo seu alto valor nutricional (NASCIMENTO et al., 2009). Sua polpa é objeto de estudos em função de seu alto valor nutritivo e sensorial. O fruto possui rico conteúdo de antocianinas, pertencentes à família dos flavonóides que conferem ao fruto uma cor avermelhada (PEREIRA, 2008). As antocianinas são conhecidas por suas propriedades farmacológicas e medicinais, tais como: antimicrobiana, anti-inflamatória, anticarcinogênica, prevenindo a oxidação de proteínas de baixa densidade (LDL), doenças neurológicas e enfermidades cardiovasculares (KUSKOSKI et al., 2002; ALASALVAR et al., 2005). O processamento do açaí gera a semente como subproduto, e estudos recentes indicam que a mesma possui teores consideráveis de óleo, podendo ser usado como fonte de energia alternativa e produção de medicamentos.

Outra palmeira de elevada importância na região Amazônica é a pupunha (*Bactris* sp.), que possui grande importância para a nutrição humana, já que é rica em carboidratos, proteínas, gorduras, fibras, elevado teor de pró-vitamina A, vários elementos minerais (OLIVEIRA, 2010) e destaca-se com potencial medicinal (JARDIM, 2006). A

pupunha, visando atender as demandas nutricionais dos indígenas na região Amazônica, vem sendo utilizada para produção de farinhas e bebidas (CLEMENT, 2000). Apesar de sua grande importância, a pupunha é uma das espécies da região amazônica que carece de estudos, uma vez que não foram realizados trabalhos que conferissem nomenclaturas específicas às variedades existentes, havendo também a ausência de nomes populares, pois a diferença mais marcante entre as variedades é quantos ao formato, coloração e tamanho de fruto.

Duas das bactérias mais utilizadas para avaliação de potenciais antimicrobianos são *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, que são conhecidas por serem causadoras de infecções hospitalares e apresentar diversas raças resistentes a antibióticos que usualmente eram utilizados contra as suas patologias. *P. aeruginosa* e *S. aureus* estão comumente associadas a doenças respiratórias, intoxicações alimentares, patologias bucais e infecções urinárias (SANTOS et al., 2002; ANSON et al., 2006; STEFANELLO et al., 2006; LIMA et al., 2007).

Apesar das reconhecidas propriedades benéficas ao ser humano destas duas espécies, esta é uma linha de pesquisa que ainda esta carente de informações, devido à limitação de conhecimento da relação destas espécies nativas e o seu potencial para controle de bactérias causadoras de doenças.

Em face da importância sócio-econômica das espécies vegetais apresentadas, o presente trabalho teve o objetivo de avaliar o potencial antimicrobiano do óleo de açaí e de duas espécies de pupunha contra cepas bacterianas de *P. aeruginosa* e *S. aureus*, causadoras de patologias humanas.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no laboratório de microbiologia, imunologia, parasitologia e plantas medicinais (MIPPLAM) do Campus Floresta da Universidade Federal do Acre.

Foram coletados frutos de açaí (*Euterpe oleracea*) e de duas espécies de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth e *Bactris dahlgreniana* Glassman), os quais encontravam-se maduros e uniformes, sendo os mesmos lavados e processados antes da extração do óleo. O processamento da pupunha consistiu de separação da casca, polpa e sementes e posterior maceração, para extração do extrato etéreo de cada parte do fruto de forma individualizada. O açaí foi beneficiado de forma a se obter a semente e posterior trituração para a extração do óleo via soxhlet. As sementes de açaí e casca, polpa e semente das espécies de pupunha foram

acondicionadas em cartuchos de celulose na câmara de soxhlet, e a extração foi realizada segundo metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002), utilizando como solvente orgânico n-hexano.

Foram utilizados como microrganismos indicadores Gram-negativos *Pseudomonas aeruginosa* (Coleção de Cultura Cefar Diagnóstica® CCCD – P003) e como representantes de microrganismos Gram-positivos, utilizou-se *Staphylococcus aureus* (Coleção de Cultura Cefar Diagnóstica® CCCD – S007). As cepas foram mantidas em meio ágar nutriente (triptona soja Agar/triptona soja caldo) com tempo de incubação de 36 horas a temperatura de 36 ± 1 °C, apresentando-se como bacilos e contagem UFC/ml $> 10^5$, sendo posteriormente transferidas a solução de soro fisiológico para ajuste a turvação de 0,5 na escala de MacFarland com auxílio de espectrofotômetro de absorção de luz, para padronização do número de bactérias.

As bactérias padronizadas foram conduzidas a meio de cultura sólido, composto por ágar Müller-Hinton, em seguida adicionou-se discos contendo 10 µl dos óleos de açaí e da casca, semente e polpa das duas espécies de pupunha. Os meios de cultura contendo bactérias e discos com os óleos foram levados para estufa permanecendo incubadas a uma temperatura de 35 ± 1 °C. Também foram utilizados a vancomicina e penicilina para *S. aureus* e gencomicina, ciprofloxacina e piperacilina+tazobactam em *P. aeruginosa* como tratamentos controle e n-hexano em ambas as bactérias, para que os possíveis efeitos proporcionados pelos óleos não fossem influenciados pelo solvente orgânico, o qual foi utilizado como extrator. Após 24 e 48 horas foram realizadas leituras para avaliação do halo de inibição formado com auxílio de paquímetro.

O delineamento experimental utilizado nos estudos foi o inteiramente casualizado com 4 repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste “F” e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As cepas de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* utilizadas nos testes apresentaram bom desenvolvimento e distribuíram-se uniformemente sobre o meio de cultura, evidenciando assim o adequado emprego da metodologia de repicagem e crescimento bacteriano. Não foi verificado halo de inibição de crescimento em torno dos discos impregnados com n-hexano

(extrator orgânico utilizado). Não se observou em *P. aeruginosa*, nas 24 e 48 horas após a impregnação, a formação de halos de inibição de crescimento quando as cepas foram submetidas aos diferentes

óleos extraídos das duas variedades de pupunha (casca, polpa e semente) e da semente do açaí (Tabela 1).

Tabela 1. Diâmetro (mm) dos halos de inibição do desenvolvimento de *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, submetidas aos diferentes tratamentos.

Tratamentos	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
<i>B. gasipaes</i> Semente	0a	0a	0a	0a
<i>B. gasipaes</i> Polpa	0a	0a	0a	0a
<i>B. gasipaes</i> Casca	0a	0a	8,5b	0a
<i>B. dahlgreniana</i> Semente	0a	0a	0a	0a
<i>B. dahlgreniana</i> Polpa	0a	0a	0a	0a
<i>B. dahlgreniana</i> Casca	0a	0a	10,75c	10c
<i>E. oleracea</i>	0a	0a	9,25b	8,5b
Hexano	0a	0a	0a	0a
Gencomicina	17b	19b	-	-
Ciprofloxacina	31c	31c	-	-
Piperaciclina + Tazobactan	31c	34d	-	-
Vancomicina	-	-	20d	18d
Penicilina	-	-	35e	39e
F	>1000	>1000	>1000	>1000
CV%	0	0	6,37	4,19
DMS	0	0	1,28	0,76

Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si segundo teste Tukey a 5%.

Os antibióticos utilizados como referência de controle para bactérias Gram-negativas (Gencomicina, Ciprofloxacina e Piperaciclina+Tazobactan), apresentaram halos de inibição, sendo Piperaciclina + Tazobactan e Ciprofloxacina, superiores à Gencomicina. (Tabela 1). A insensibilidade de *P. aeruginosa* frente a óleos vegetais (alho, copaíba e andiroba), também foi verificada em estudo realizado por Packer e Luz (2007).

Segundo Bertini et al., (2005) a bactéria *P. aeruginosa* mostrou-se resistente a ação de antibióticos que comumente são usados nos tratamentos das doenças causadas por ela, indicando que esse microorganismo é muito difícil de ser combatido, devido a incapacidade dos óleos aqui testados, em degradar a membrana lipoprotéica presente em microrganismos gram-negativos como *P. aeruginosa* (Koyama et al, 1997). Tal efeito pode explicar também a ausência de resultados observados nesse trabalho, e a necessidade de se realizar outros trabalhos para verificar substâncias que se mostrem eficientes no combate às bactérias ora estudadas.

Os óleos da casca das duas espécies de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth e *Bactris dahlgreniana* Glassman) e de açaí (*Euterpe oleracea*) apresentaram halo de inibição na primeira leitura (24 horas) sobre *Staphylococcus aureus*, fato este que não foi observado na segunda leitura (48 horas) para a *B. gasipaes*, porém permanecendo efeito inibitório sobre *S. aureus* com os óleos de açaí e de *B. dahlgreniana* (Tabela 1).

Corroborando estes resultados, Mendonça e Onofre (2009) em estudos com óleo de copaíba, verificou sua capacidade de inibir o crescimento das bactérias *E. coli* ATCC-25922, *S. aureus* ATCC-25923 e *P. aeruginosa* ATCC-9027, apresentando com isso uma concentração inibitória mínima de 1,56, 3,12 e 12,5% para *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*, respectivamente.

Uma das explicações para os resultados apresentados por *S. aureus* é que esse microorganismo possui grande sensibilidade a antibióticos e substâncias que possuem tal potencial, elegendo-o como um microorganismo bioindicador de substâncias com potencial medicinal (OLIVEIRA et al., 2006). Trabalhos realizados por

Packer (2007) e Ferronato et al., (2007), comprovam a susceptibilidade de *Staphylococcus aureus* a óleos de alho (*Allium sativum* L.), copaíba (*Copaifera* sp.), alecrim (*Lippia sidoides* Cham.), andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) e vassoura (*Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C.).

A análise de dados, referentes ao halo de inibição de *S. aureus*, nas primeiras 24 horas, demonstra que o óleo extraído da casca de ambas as espécies de pupunha e da semente de açaí, apresentaram potencial antimicrobiano, demonstrado pela formação de halo de inibição (Tabela 1). Os antibióticos utilizados como controle (Vancomicina e Penicilina), apresentaram diâmetro de halos significativamente maiores em relação aos óleos.

O fato de *B. gasipaes* não apresentar formação de halo na segunda leitura, demonstra que seu efeito antimicrobiano não permanece por mais de 24 horas, podendo ser explicado por uma provável oxidação dos compostos ou volatilização dos mesmos, causada por exposição constante à temperatura de 35°C, a qual, as bactérias foram submetidas. Indicando ainda que as diferenças entre as variedades, em relação à estabilidade de compostos antimicrobianos podem ser genéticas.

A ação antimicrobiana dos óleos é realizada por diversos componentes que atuam de forma

deletéria na bactéria rompendo e penetrando a sua estrutura. Tais componentes devem ser estudados separadamente para a verificação de qual substância ou quais são as reais responsáveis pelos efeitos antimicrobianos, pois muitos desses compostos são inertes, não colaborando para efeito prejudicial à atividade bacteriana (FERRONATO et al., 2007). É importante o estudo sobre as substâncias presentes nos óleos das espécies vegetais que neste trabalho apresentaram efeito antimicrobiano, para posterior uso como composto farmacêutico, podendo ser utilizados como medicamento contra as doenças causadas por *S. aureus*.

CONCLUSÕES

Os óleos de sementes de açaí (*Euterpe oleraceae*) e casca das duas espécies de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth e *Bactris dahlgreniana* Glassman) apresentaram efeito inibitório frente à *Staphylococcus aureus*, mas não foram eficientes contra *Pseudomonas aeruginosa*.

A espécie *S. aureus* possui grande sensibilidade a antibióticos, elegendo-o como um microorganismo bioindicador de substâncias com potencial medicinal.

ABSTRACT: The use of medicinal plants as a way to combat human diseases has become a constant practice, since the presence of some substances enables the efficient production of medicines. This study aimed to evaluate the antimicrobial potential of the seed oil of açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) And bark, pulp and seeds of two species of palm (*Bactris gasipaes* Kunth and *Bactris dahlgreniana* Glassman), native to the Amazon region, the growth of bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. The oils used were extracted with hexane and cellulose impregnated discs (6 mm). The treatments were seed oil and açaí seeds of two varieties of palm and also the skin and pulp, which were extracted with hexane and was used as control, antibiotics and n-hexane. After 24 and 48 hours of incubation, the bacteria were subjected to reading the inhibition halos. Was not observed the presence of inhibition zone with the use of oils and peach açaí on the development of *P. aeruginosa*. Observed antimicrobial effect of seed oil, açaí and bark of two varieties of palm in *S. aureus*, due to the presence of inhibition zone. After 48 horas treatments with pulp oil seed and the two species of palm showed no zone of inhibition and the shell of *B. gasipaes*, since the husk of *B. dahlgreniana* provided inhibition of 10 mm. The inhibition shown by antibiotics used as control were higher in the two bacteria, reaching up to 39 mm diameter with the application of penicillin after 48 hours.

KEYWORDS: Bioprospecting. *Euterpe oleracea*. *Bactris gasipaes*. Bacteria.

REFERÊNCIAS

ALASALVAR, C.; AL-FARSI, M.; QUANTICK, P. C.; SHAHIDI, F.; WIKTOROWICZ, R. Effect of chill storage and modified atmosphere packaging (MAP) on antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, phenolics and sensory quality of ready-to-eat shredded orange and purple carrots. **Food Chemistry**, v. 89, p. 69–76, 2005.

- ANSOM, G. V.; HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L. Levantamento de Dados Epidemiológicos Relativos à 11 Ocorrências/ Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (Dtas) no Estado do Paraná – Brasil, No Período De 1978 A 2000. **Ciências Agrotecnológicas**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1139-1145, 2006.
- BERTINI, L. M.; PEREIRA, A. F.; OLIVEIRA, C. L. L.; MENEZES, E. A.; MORAIS, S. M.; CUNHA, F. A.; CAVALCANTI, E. S. B. Perfil de Sensibilidade de Bactérias Frente a Óleos Essenciais de Algumas Plantas do Nordeste do Brasil. **Infarma**, Brasília, v. 17, n. 3/4, 2005.
- CLEMENT, C. R. **Pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth, *Palmae*)**. Jaboticabal:Fundep, 2000. 48p. (Série Frutas Nativas, 8.)
- FERRONATO, R.; MARCHESAN, E. D.; PEZENTI, E.; BEDINARSKI, F.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais produzidos por *Baccharis dracunculifolia* D.C. e *Baccharis uncinella* D.C.(Asteraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 17, n. 2, p. 224-230, 2007.
- JARDIM, M. A. G.; MEDEIROS, T. D. S. Plantas Oleaginosas do Pará:Composição Florística e Usos Medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 84, n. 4, p. 124-127, 2006.
- KUSKOSKI, E. M.; FETT, P.; ASUERO, A.G. Antocianos: un grupo de pigmentos naturales. Aislamiento, identificación y propiedades. **Alimentaria**, v. 2, n. 61, p. 61-74, 2002.
- LIMA, M. E.; ANDRADE, D.; HAAS, V. J. Avaliação Prospectiva da Ocorrência de Infecção em Pacientes Críticos de Unidade de Terapia Intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 19, n. 3, 2007.
- KOYAMA, S., YAMAGUCHI, Y., TANAKA, S., MOTOYASHIMA, J. A new substance (yoshixol) with an interesting antibiotic mechanism from wood oil of Japanese traditional tree (kishinoki), *Chamaecyparis obtusa*. *General Pharmacol.* v. 28, p. 797-804, 1997.
- MENDONÇA, D. E.; ONOFRE, S. B. Atividade antimicrobiana do óleo-resina produzido pela copaíba - *Copaifera multijuga*Hayne (Leguminosae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 19 n. 2b, 2009.
- NOVAES, T. S.; COSTA, J. F. O.; DAVID, J. P. L.; DAVID, J. M.; QUEIROZ, L. P.; FRANCA, F.; GIULIETTE, A. M.; SOARES, M. B. P.; SANTOS, R. R. Atividade antimicrobiana em alguns extratos de vegetais de semi-árido brasileiro. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 13, supl. 2, p. 5-7, 2003.
- NASCIMENTO, W. M. O.; CICERO, S. M.; DION, A.; NOVENBRE, S. L. C. Conservação de sementes de açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 24-33, 2009.
- OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L.; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N.; LIMA I. O.; SOUZA, E. L.; TOLEDO, M. S.; FILHO, R. N. S. Estudo da Interferência de Óleos Essenciais sobre a Atividade de Alguns Antibióticos Usados na Clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 16, n. 1, p. 77-82, 2006.
- PEREIRA, N. S. Estudo Comparativo entre PS/Beta-Caroteno e PS/Ácido Oléico com PS/Óleo de Buriti (*Mauritia flexuosa*) e Preparação e Caracterização dos Materiais PS/Óleo de Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). 2008. 106 f. **Dissertação** (Mestrado). Universidade de Brasília - UnB, Brasília, 2008.
- PACKER, J. F.; LUZ, M. M. S. Método para Avaliação e Pesquisa da Atividade Antimicrobiana de Produtos de Origem Natural. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 102-107, 2007.
- SILVA, D. J; QUEIROZ, A. C. **Análises de alimentos – métodos químicos e biológicos**. 3.ed. Viçosa: UFV, 2002. p. 39-45.

SANTOS, S. S. F.; LOBERTO, J. C. S.; MARTINS, C. A. P.; JORGE, A. O. C. Prevalência e sensibilidade in vitro de enterobacteriaceae e pseudomonas isoladas da cavidade bucal e bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica. **Pós Graduação Revista Faculdade Odontológica, São José dos Campos**, v. 5, n. 2, 2002.

STEFANELLO, M. E.; SALVADOR, M. J.; ITO, I. Y.; MACARI, P. A. T. Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica de extratos de *Gochnatia polymorpha* ssp *floccosa*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 16, n. 4, 2006.

OLIVEIRA, A. M. M. M.; MARINHO, H. A. Desenvolvimento de Panetone à Base de Farinha de Pupunha (*Bactris Gasipaes* Kunth.). **Alimento e Nutrição**, Araraquara, v. 21, n. 4, p. 595-605, 2010.

VASCONCELOS K. R. F.; VEIGA JUNIOR V. F.; ROCHA W. C.; BANDEIRA M. F. C. L. Avaliação in vitro da atividade antibacteriana de um cimento odontológico à base de óleo-resina de *Copaifera multijuga* Hayne. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 18 (Supl.), p. 733-738, 2008.