

ANÁLISE DA DISPOSIÇÃO DE COMPOSTOS FITOQUÍMICOS E ATIVIDADE BACTERIANA DO EXTRATO DOS FRUTOS DE PIMENTA ROSA

STHEFANY LORENA GEMAQUE DIAS^{1*}, JAQUELINE HOSCHEID², DJÉSSICA TATIANE RASPE³, CAMILA DA SILVA^{1,4}

¹ Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Centro de Tecnologia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900 Maringá-PR, Brasil

² Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada a Agricultura, Pç. Mascarenha de Moraes, 4282, 87502-210, Umuarama-PR, Brasil

³ Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900 Maringá-PR, Brasil

⁴ Departamento de Tecnologia, Centro de Tecnologia, Universidade Estadual de Maringá, Av. Ângelo Moreira da Fonseca, 1800, 87506-370, Umuarama-PR, Brasil

*e-mail: sthefany.dias@gmail.com

RESUMO - O objetivo do estudo foi analisar os compostos bioativos presentes nos extratos dos frutos da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi) obtidos por meio da extração por líquido pressurizado (ELP) e avaliar a concentração inibitória mínima (CIM) contra as cepas bacterianas de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. enterica*. Para tanto, utilizou etanol como solvente, na temperatura (80 °C) no tempo de extração dinâmica (45 min). A piranona, furfural, γ -eudesmol e β -eudesmol foram identificados no extrato da pimenta rosa, observando predominância de 35,38% de heterocíclicos aromáticos, 25,71% de sesquiterpenóides, 17,82% de carboidratos, 5,26% de ácidos graxos e 4,56% de ésteres etílicos. Para CIM o solvente etanol obteve valores de 15,625, 31,25, 125,00 e 31,25 (mg mL⁻¹) para *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginos* e *S. enterica*, respectivamente.

INTRODUÇÃO

Os frutos da pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius* Raddi) apresentam em sua composição compostos secundários que lhe conferem potencial terapêutico no tratamento de enfermidades como úlceras e lesões da pele (Carlini *et al.*, 2010; Nunes-Neto *et al.*, 2017), promovendo auxílio na prevenção de cânceres (Silva *et al.*, 2017b), apresentando características anti-inflamatórias, antipiréticas e analgésicas (Johann, 2010; Carvalho *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2017b). Manifestando resultados favoráveis para atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Bacilo cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli* (Sá Junior *et al.*, 2016).

Para obtenção desses compostos utilizou de técnicas de extração por líquido

pressurizado (ELP) sendo utilizada para recuperação de elementos bioativos de vegetais com potencial terapêutico (Garcia-Mendoza *et al.*, 2017; Leyva-Jiménez *et al.*, 2018; Okiyama *et al.*, 2018; Soltoft *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2008). Do mesmo modo, o procedimento manifesta benefícios devido agilidade de extração (Azmir *et al.*, 2013; Garcia-Mendoza *et al.*, 2017; Melgarlalanne *et al.*, 2017; Okiyama *et al.*, 2018; Viganó *et al.*, 2016), tal como a possibilidade de automatização e redução de gastos, sendo ecologicamente viável, consumindo baixo volume de solvente (Azmir *et al.*, 2013; Osorio-Tobón e Meireles, 2013; Viganó *et al.*, 2016). Para tanto, avaliou-se a composição química e atividade antibacteriana dos extratos obtidos pela extração por líquido pressurizado. Mostrando que a ELP é uma metodologia de

interesse econômico devido aos seus benefícios apresentados para obtenção de compostos bioativos.

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais

Para a obtenção dos extratos foram utilizados frutos da pimenta rosa e etanol. Para a determinação da composição química foi utilizado etanol (como solvente de diluição). A composição em ácidos graxos foi determinada utilizando metanol hidróxido de potássio, ácido sulfúrico e *n*-heptano. Para atividade antibacteriana foram utilizados: caldo BHI, Tween 80, 2, Cloreto de 3,5-trifenil-tetrazólio (TTC) e cepas de *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. enterica*.

Extração dos compostos

O extrator foi alimentado com ~2 g de amostra e solvente, a temperatura do sistema foi controlada por banho de aquecimento (80 °C), até pressão de 10 MPa. O tempo de extração estática foi de 30 min, seguindo de extração dinâmica com vazão do solvente constante. As amostras foram resfriadas a 20 °C e coletadas no tempo de 45 min conforme Raspe *et al.* (2023).

Perfil químico e composição em ácidos graxos

Para determinação do perfil químico, as amostras (10 µL) foram diluídas em etanol (1 mL) e analisadas em cromatógrafo a gás acoplado com espectro de massas (Shimadzu, CGMS-QP2010 SE) e equipado com coluna capilar (Shimadzu RH-Rtx-5MS, 30m×0,25mm×0,25m). As condições de análise cromatográficas empregadas foram descritas por Rebelatto *et al.* (2020).

Avaliação da atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi analisada, por microdiluição seriada pelo método (CLSI, 2009), para determinação da CIM. O extrato foi dissolvido em Tween 80 1% (1,25 à 125 mg/mL) em 100 µL (BHI caldo e amostra). Após diluição, 5 µL (inóculo) foram adicionados em placas incubadas (36 °C - 24 h). Foram adicionados 20 µL de solução TTC (2%) (36 °C - 2 h). As concentrações baixas, sem crescimento visível, foram que inibiram o crescimento bacteriano.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Perfil químico e composição em ácidos graxos

A Tabela 1 apresenta a composição química dos extratos obtidos a partir da ELP (80 °C e 45 min) com etanol, bem como a composição em ácidos graxos

Tabela 1. Perfil químico e composição em ácidos graxos dos extratos obtidos por extração por líquido pressurizado (ELP).

	ELP
Piranona	1,85 ± 0,01
Furfural	33,53 ± 0,01
Elemol	3,31 ± 0,01
γ-Eudesmol	5,74 ± 0,01
β-Eudesmol	8,19 ± 0,01
α-Eudesmol	8,56 ± 0,01
Ácido Palmítico, Éster Etfílico	1,00 ± 0,01
Ácido Palmítico	1,31 ± 0,01
Ácido Linoléico, Éster Etfílico	2,01 ± 0,01
Ácido Oléico, Etil Ester	0,98 ± 0,01
Ácido Linoléico	1,13 ± 0,01
Ácido Oléico	2,45 ± 0,01
Ácido Esteárico	0,37 ± 0,01
Não identificado	1,65 ± 0,01
Ácido graxos (%)	
Mirístico	1,15 ± 0,27
Palmítico	15,86 ± 0,60
Esteárico	9,11 ± 0,76
Oléico	29,89 ± 0,89
Linoléico	43,99 ± 0,74

O extrato obtido pela ELP (80 °C e 45 min) foi analisado por GC-MS identificando grupos químicos como: heterocíclicos aromáticos (35,38%), sesquiterpenóides (25,71%), carboidratos (17,82%), ácidos graxos (5,26%) e ésteres etílicos (4,56%). Belhoussaine *et al.* (2022) constataram 45,90% de sesquiterpenóides (extrato) e Oliveira *et al.* (2020) encontraram 2,92 % de ácidos graxos (óleo essencial) dos frutos da pimenta rosa. Os sesquiterpenóides apresentam capacidade de rompimento da parede celular dos microrganismos, prevenindo contra danos oxidativos causados em plantas (Chadwick *et al.*, 2013). Elementos como piranona, furfural γ -eudesmol e β -eudesmol foram identificados no extrato da pimenta rosa apresentando ação antimicrobiana. Elaasser *et al.* (2011) ilustraram que derivados da piranona isolados de *A. Candidus* evidenciaram alta atividade antifúngica e atividade antioxidante quando comparado com α -tocoferol para redução de radicais livres DPPH. Para Chai *et al.* (2013) o furfural e derivados apresentaram boa inibição na proliferação da *B. subtilis*, sendo fonte de novos inibidores da tirosinase, destinados a fabricação de bioinseticidas e antimicrobianos.

Concentração inibitória mínima (CIM)

A atividade antibacteriana in vitro do extrato da pimenta rosa obtido (80 °C - 45 min) indicou concentração inibitória mínima (mg mL⁻¹) de 15,625, 31,25, 125,00 e 31,25 para *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginos* e *S. enterica*, respectivamente. Dannenberg *et al.* (2016) determinaram que o óleo essencial da pimenta rosa, apresentaram inibição contra a *S. aureus*, *S. dysenteriae*, *P. aeruginosa* e *A. hydrophila*.

CONCLUSÃO

O extrato da pimenta rosa obtido pela extração por líquido pressurizado evidenciou compostos bioativos como a piranona, furfural γ -eudesmol e β -eudesmol na sua composição química, sendo esses capazes de inibir cepas de *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginos* e *S. enterica*.

Mostrando que o extrato contém propriedades anticancerígenas, anti-inflamatórias e antibacterianas de interesse para o tratamento de enfermidades.

REFERÊNCIAS

- AZMIR, J.; ZAIDUL, I. S. M.; RAHMAN, M. M.; SHARIF, K. M.; MOHAMED, A.; SAHENA, F.; JAHURUL, M. H. A.; GHAFUOR, K.; NORULAINI, N. A. N.; OMAR, A. K. M. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, p. 426–436, 2013.
- BELHOUSSEINE, O.; KOURCHI, C. E.; HARHAR, H.; BOUYAHYA, A.; YADINI, A. E.; FOZIA, F.; ALOTAIBI, A.; ULLAH, R.; TABYAOUI, M. Chemical Composition, Antioxidant, Insecticidal Activity, and Comparative Analysis of Essential Oils of Leaves and Fruits of *Schinus molle* and *Schinus terebinthifolius*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p.12, 2022.
- CARLINI, E. A.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; RODRIGUES, E.; TABACH, R. Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, p.140–146, 2010.
- CARVALHO, M. G.; MELO, A. G. N.; ARAGÃO, C. F. S.; RAFFIN, F. N.; MOURA, T. F. A. L. *Schinus terebinthifolius* Raddi: Chemical composition, biological properties and toxicity. **Brazilian Journal of Medicinal Plants**, v. 15, p.158–169, 2013.
- CHADWICK, M.; TREWIN, H.; GAWTHROP, F.; WAGSTAFF, C. Sesquiterpenoids Lactones: Benefits to Plants and People. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, p. 12780–12805, 2013.

- CHAI, W-M.; LIU, X. HU, Y-H.; FENG, H-L.; JIA, Y-L.; GUO, Y-J.; ZHOU, H-T.; CHEN, Q-X. Antityrosinase and antimicrobial activities of furfuryl alcohol, furfural and furoic acid. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 57, p.151-155, 2013.
- CLSI. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard, 9th ed. NCCLS document M7-A9. Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2012.
- DANNENBERG, G. S.; FUNCK, G. D.; MATTEI, F. J.; SILVA, V. P.; FIORENTINI, A. M. Antimicrobial and antioxidant activity of essential oil from pink pepper tree (*Schinus terebinthifolius* Raddi) in vitro and in cheese experimentally contaminated with *Listeria monocytogenes*. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 36, p.120-127, 2016.
- ELAASSER, M. M.; ABDEL-AZIZ, M. M.; EL-KASSAS, R. A. Antioxidant, antimicrobial, antiviral and antitumor activities of pyranone derivative obtained from *Aspergillus candidus*. **Journal of Microbiology and Biotechnology Research**, v. 1, n. 4, p.5-17, 2011.
- GARCIA-MENDOZA, M.; DEL, P.; ESPINOSA-PARDO, F. A.; BASEGGIO, A. M.; BARBERO, G. F.; MARÓSTICA JUNIOR, M. R.; ROSTAGNO, M. A.; MARTÍNEZ, J. Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from juçara (*Euterpe edulis* Mart.) residues using pressurized liquids and supercritical fluids. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p.9-16, 2017.
- JOHANN, S. Antifungal activity of extracts of some plants used in Brazilian traditional medicine against the pathogenic fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. **Pharmaceutical biology**, v. 48, n. 4, p.388-396, 2010.
- LEYVA-JIMÉNEZ, F. J.; LOZANO-SÁNCHEZ, J.; BORRÁS-LINARES, I.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A. Comparative study of conventional and pressurized liquid extraction for recovering bioactive compounds from *Lippia citriodora* leaves. **Food Research International**, v. 109, p.213-222, 2018.
- MELGARLALANNE, G.; HERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, A. J.; JIMÉNEZFERNÁNDEZ, M.; AZUARA, E. Oleoresins from *Capsicum* spp.: Extraction Methods and Bioactivity. **Food and Bioprocess Technology**, v. 10, n. 1, p.51-76, 2017.
- NUNES-NETO, P. A.; PEIXOTO-SOBRINHO, T. J. S.; JÚNIOR, E. D. S.; LEOPOLDINA, S. J. L.; OLIVEIRA, A. R. S.; PUPO, A. S.; ARAÚJO, A. V.; COSTASILVA, J. H.; WANDERLEY, A. G. The effect of *Schinus terebinthifolius* Raddi (*Anacardiaceae*) bark extract on histamine-induced paw edema and ileum smooth muscle contraction. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-10, 2017.
- OKIYAMA, D. C. G.; SOARES, I. D.; CUEVAS, M. S.; CREVELIN, E. J.; MORAES, L. A. B.; MELO, M. P.; OLIVEIRA, A. L.; RODRIGUES, C. E. C. Pressurized liquid extraction of flavanols and alkaloids from cocoa bean shell using ethanol as solvent. **Food Research International**, v. 114, p.20-29, 2018.
- OLIVEIRA, V. S.; AUGUSTA, I. M.; BRAZB, M. V. C.; RIGER, C. J.; PRUDÊNCIO, E. R.; SAWAYA, A. C. H. F.; SAMPAIO, G. R.; TORRES, A. F. S.; SALDANHA, T. Aroeira fruit (*Schinus terebinthifolius* Raddi) natural antioxidant: Chemical constituents, bioactive compounds and in vitro and in vivo antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 11, n. 5, p.308-8146, 2020.
- OSORIO-TOBÓN, J. F.; MEIRELES, A. A. Recent Applications of Pressurized Fluid Extraction: *Curcuminoids* Extraction with Pressurized Liquids. **Food and Public Health**, v. 3, n. 6, p.289-303, 2013.
- RASPE, D. T.; SILVA, C.; COSTA, S. C. Pressurized liquid extraction of compounds from Stevia leaf: Evaluation of process variables and extract characterization. The

Journal of Supercritical Fluids, p.193, 2023.

REBELATTO, E. A.; RODRIGUES, L. G. G.; RUDKE A. R. Sequential green-based extraction processes applied to recover antioxidant extracts from pink pepper fruits. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 166, 2020.

SÁ JUNIOR, P. F.; MUNIZ, E. B.; PEREIRA, N. A.; OLIVEIRA, M. A. S. Atividade antimicrobiana in vitro dos extratos aquosos, hidroalcoólicos e alcoólicos de espécies da família *anacardiaceae*. **Revista de Ciências Medicina Biológica**, v. 15, n. 1, p.56-61, 2016.

SILVA, M. M.; IRIGUCHI, E. K. K.; KASSUYA, C. A. L.; VIEIRA, M. C.; FOGGIO, M. A.; CARVALHO, J. E.; RUIZ, A. L. T. G.; SOUZA, K. P.; FORMAGIO, A. S. N. *Schinus terebinthifolius*: phenolic constituents and in vitro antioxidant, antiproliferative and in vivo anti-inflammatory activities. **Revista Brasileira**, v. 27, p.445–452, 2017b.

SOLTOFT, M.; CHRISTENSEN, J. H.; NIELSEN, J.; KNUTHSEN, P. Pressurised liquid extraction of flavonoids in onions. Method development and validation. **Talanta**, v. 80, p.269–278, 2009.

VIGANÓ, J.; BRUMER, L. Z. P. A.; BRAGA, P. A. C.; DA SILVA, J. K.; MARÓSTICA, J. M. R.; REYES, F. G. J.; MARTÍNEZ, J. Pressurized liquids extraction as an alternative process to readily obtain bioactive compounds from passion fruit rinds, **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, p.382–390, 2016.

ZHANG, Y.; LI, S. F.; WU, X. W. Pressurized liquid extraction of flavonoids from *Houttuynia cordata* Thunb. **Separation and Purification Technology**, v. 58, n. 3, p.305–310, 2008.