

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
INSTITUTO DE SAÚDE E BIOTECNOLOGIA - ISB
BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

MARIA DE JESUS DE SOUZA MARTINS

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DO CAULE DO
CAJUEIRO (*Anacardium occidentale* L.) CONTRA BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA
MÉDICA**

COARI – AM

2022

MARIA DE JESUS DE SOUZA MARTINS

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DO CAULE DO
CAJUEIRO (*Anacardium occidentale* L.) CONTRA BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA
MÉDICA**

Monografia apresentada na disciplina Trabalho de Conclusão curso IV no curso de Bacharelado em Biotecnologia do Instituto de Saúde e Biotecnologia - ISB da Universidade Federal do Amazonas –UFAM, para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Me. Michel Nasser Corrêa
Lima Chamy

COARI – AM

2022

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

M386p Martins , Maria de Jesus de Souza
Prospecção fitoquímica e avaliação da atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca do caule do cajueiro *Anacardium occidentale* L. contra bactérias de importância médica / Maria de Jesus de Souza Martins . 2021
.f.: il.; 31 cm 22

Orientador: Michel Nasser Corrêa Lima Chamy
TCC de Graduação (Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas

Planta medicinal . 2. Atividade antimicrobiana . 3. .1
Concentração inibitória . 4. Cajueiro . I. Chamy, Michel Nasser Corrêa Lima. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

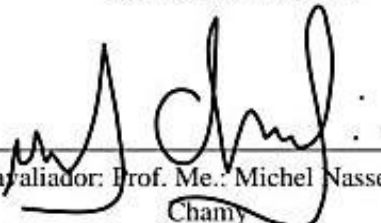
Maria de Jesus Souza Martins

**PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA DO EXTRATO ETANÓLICO DA CASCA DO CAULE DO
CAJUEIRO (*ANACARDIUM OCCIDENTALE* L.) CONTRA BACTÉRIAS DE
IMPORTÂNCIA MÉDICA**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado
como requisito parcial para a obtenção de grau de
Bacharel em Biotecnologia, pela Universidade
Federal do Amazonas.

Data de aprovação: 22 / 09 / 2022

Banca Examinadora:



Presidente/avaliador: Prof. Me.: Michel Nasser Correa Lima
Chamy



Avaliador: Prof. Dr.: Klenicy Kazumy de Lima Yamaguchi



Avaliador: Prof. Me.: Giuliana Rosana da Silva Souza

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a DEUS por ter me dado forças para prosseguir nesta jornada, por ter me dado condições de superar todos os obstáculos que não foram poucos, mais com fé e determinação cheguei até aqui.

Agradeço a todos os professores que me acompanharam e me ajudaram no período da graduação, ao meu orientador Prof. Me. Michel Chamy, que sempre com muita paciência e grande sabedoria me orientou e me passou excelentes aprendizados que jamais irei esquecer.

Sou grata também ao meu esposo Rosivaldo, por eu estar sempre ausente, mais sempre me apoiou muito, e sempre acompanhou minhas conquistas.

Sou grata também a todos os colegas e amigos que me acompanharam e me ajudaram durante o período da faculdade. Em especial agradeço a minha amiga, Danyelle Valery, nos conhecemos durante a graduação e assim uma grande amizade floresceu. Amiga muito obrigada por tudo!

Sou imensamente grata a minha amiga e irmã de longa data Maria Tomaz que sempre esteve comigo nos momentos mais difíceis. Muito obrigada por tudo amiga!

Agradeço a Universidade Federal do Amazonas e toda a equipe do Laboratório de Microbiologia pelo carinho e dedicação.

Por fim, agradeço a todos que fizeram e estão fazendo parte da minha história, e que de alguma forma contribuiu na minha trajetória.

RESUMO

Introdução: O uso de plantas medicinais como fitoterapia e método preventivo é uma prática medicinal milenar pertencente às mais diversas culturas e ainda é praticada, principalmente em países em desenvolvimento. As razões para o uso dessas espécies vegetais são a facilidade de disponibilidade e baixo custo, além do fato de que existem indivíduos que acreditam que os produtos naturais são menos prejudiciais à saúde do que as drogas sintéticas. **Objetivos:** O presente trabalho teve como objetivo, avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca do caule do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), contra bactérias de importância médica e realizar a triagem fitoquímica preliminar do extrato. **Métodos:** O material vegetal foi obtido comercialmente e em seguida foi submetido a extração pelo método de maceração a frio. A triagem fitoquímica preliminar foi realizada por meio de prospecção. A atividade antimicrobiana foi avaliada por meio do método de disco-difusão. **Resultados:** O rendimento do extrato foi de 27,3 g. Foram identificadas as seguintes classes de metabólitos: fenóis, taninos, flavonoides, flavononas, leucoantocianinas e quinonas. Quanto aos ensaios antimicrobianos, os extratos apresentaram halos de inibição frente as bactérias *Shigella flexneri* nas em todas as concentrações testadas (750 mg/mL= 10,9 mm; 850mg/mL=11,4 mm; 950 mg/mL=12,3 mm), e *Enterococcus faecalis* (750 mg/mL= 12,1 mm; 850mg/mL=12,3 mm; 950 mg/mL=12,2 mm). O extrato não apresentou halos de inibição frente a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*. **Considerações finais:** Ao analisar os extratos foi possível detectar as substâncias presente o potencial antimicrobiano da casca do caule do cajueiro frente a bactérias de importância médica. Estudo futuros são necessários para determinar o perfil químico do extrato, as concentrações inibitórias mínimas bem como realizar testes de citotoxicidade e genotoxicidade. Vale ressaltar que, nas condições testadas o material vegetal mostrou-se promissor quanto a atividade antimicrobiana, principalmente avaliando as classes de metabólitos encontradas.

Palavras-chaves: plantas medicinais, atividade antimicrobiano, concentrações inibitórias.

ABSTRACT

Introduction: The use of medicinal plants as phytotherapy and preventive method is a millenary medicinal practice belonging to the most diverse cultures and is still practiced, especially in developing countries. The reasons for the use of these plant species are ease of availability and low cost, in addition to the fact that there are individuals who believe that natural products are less harmful to health than synthetic drugs. **Objectives:** The main objectives of this study were to evaluate the antimicrobial activity of ethanol extract from the bark of the cashew stem (*Anacardium occidentale L.*), against bacteria of medical importance and to perform preliminary phytochemical screening of the extract. **Methods:** The plant material was obtained commercially and then was submitted to extraction by the cold macerated method. Preliminary phytochemical screening was performed by colorimetry. Antimicrobial activity was evaluated using the disk-diffusion method. **Results:** The yield of the extract was 27.3 g. The following classes of metabolites were identified: phenols, tannins, flavonoids, flavoneones, leucoanthocyanins and quinones. As for antimicrobial assays, the extracts showed inhibition halos against *Shigella flexneri* bacteria in all concentrations tested (750 mg/mL= 10.9 mm; 850mg/mL=11.4 mm; 950 mg/mL=12.3 mm), and *Enterococcus faecalis* (750 mg/mL= 12.1 mm; 850mg/mL=12.3 mm; 950 mg/mL=12.2 mm). The extract did not present inhibition halos against *pseudomonas aeruginosa* bacteria. **Final considerations:** When analyzing the extracts it was possible to observe the antimicrobial potential of the bark of the cashew tree stem against bacteria of medical importance. Future studies are needed to determine the chemical profile of the extract, minimum injunction concentrations as well as perform cytotoxicity and genotoxicity tests. Vale ressaltar que, nas condições testadas o material vegetal mostrou-se promissor quanto a atividade antimicrobiana, principalmente avaliando as classes de metabólitos encontradas.

Keywords: medicinal plants, antimicrobial activity, injunction concentrations.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS	10
2.1 Objetivo geral	10
2.2 Objetivos específicos	10
3 METODOLOGIA	11
3.2 Triagem fitoquímica preliminar	12
3.3 Preparo do meio Ágar Mueller-Hinton	12
3.4 Repique das cepas bacterianas	13
3.5 Preparo da solução salina e preparo do inóculo	14
3.6 Avaliação da atividade antimicrobiana	15
4 RESULTADO E DISCUSSÃO	16
4.2 Resultado da atividade antimicrobiana do extrato etanólico	17
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	19
6 REFERÊNCIAS	20

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre as plantas medicinais sempre acompanhou a evolução do homem através dos tempos, contudo o seu início não está totalmente esclarecido (MONTENEGRO, 2012; MARINHO et al. 2007). Tendo em vista que, alguns autores sugerem que o descobrimento das propriedades curativas das plantas se deu de maneira meramente intuitiva ou por meio da observação dos animais que quando enfermos procuravam nas ervas a cura para suas doenças (ARAÚJO et al. 2007).

Assim o uso de plantas medicinais como fitoterapia é um dos métodos preventivos, sendo uma prática medicinal milenar pertencente às mais diversas culturas, ainda muito praticada principalmente em países em desenvolvimento, sendo muitas vezes o único recurso utilizado na atenção básica de saúde para a população (VEIGA JUNIOR et al., 2005; MATTOS et al., 2018).

Nesse contexto planta medicinal é toda e qualquer planta que possua, partes ou órgãos com substâncias químicas que podem ser utilizadas para fins de tratamento ou prevenção de enfermidades, sendo amplamente utilizadas pela medicina (AMOROZO, 2002; OMS, 2013). Para grande parte da população o uso de plantas medicinais é visto como uma integrativa histórica à utilização de medicamentos sintéticos, visto que os últimos são considerados mais caros se tornando menos acessíveis a população e agressivos ao organismo. Por esse motivo a disseminação do uso de plantas medicinais, bem como a automedicação deve-se principalmente ao baixo custo e fácil acesso à grande parcela da população (OMS, 2008).

O Brasil possui a maior variedade de plantas medicinais do planeta, com cerca de 200.000 espécies, distribuídas em diferentes ecossistemas, além de uma extraordinária diversidade cultural, refletindo em diferentes formas de utilização terapêutica desses recursos naturais, dentre tantas destaca-se a *Anacardium occidentale L.* (LEWINSOHN, 2002).

Dessa forma a casca do caule do *Anacardium occidentale L.* são amplamente utilizada na medicina popular contra enfermidades como: úlceras, aftas, impigens e leucorréia, principalmente na forma de chá e infusões com finalidades anti-inflamatória, cicatrizante e antiglicêmico. Isso porque o extrato da casca do cajueiro contém ácido anacárdico como ingrediente principal, que contém atividade comprovada contra *Candida albicans* e *Candida utilis* e atividade antimicrobiana em células gram-positivas (BERMEJO, 2012).

Estudos citam que populações Amazônicas usam o extrato das cascas do cajueiro como um anticoncepcional natural que são produzidos a partir do extrato o que contém a presença de

princípios ativos convencionais constituídos de valores que podem e devem ser incorporados a produção de novos fármacos (PEREIRA, 2015).

A Amazônia é um dos mais complexos ecossistemas da terra em equilíbrio, e apresenta grande importância econômica no Brasil (MAZZETTO et al., 2009). Já o cultivo, a extração e processamento do *Anacardium occidentale* L. representa uma atividade tradicional no Nordeste, havendo registro dessa ação há mais de 50 anos. O que contribui para geração de emprego, tanto nas propriedades rurais quanto nas agroindústrias onde os processamentos do extrato de caju representam atividades com grande potencial, de sustentabilidade que favorece a economia do país (GUANZIROLI, 2009).

Segundo as pesquisas sobre o comércio do caju no Ceará através do Instituto de Desenvolvimento Industrial do Ceará (INDI), estudos sobre a história e utilização em publicações de fundações, EMBRAPA, SEBRAE, enfatizam a importância econômica, cultural, social do caju no Ceará e a absorção de seus subprodutos na alimentação como os doces, bebidas, leites, preparações com o bagaço e muitos, entre esses o de medicamento (FERREIRA, 2016).

Dentre as várias espécies vegetais com propriedades curativas, destaca-se o interesse pela planta *Anacardium occidentale* L., por ser uma espécie que possui um grande potencial, é a única cultivada e a mais dispersa do gênero pertence à família Anacardiaceae, é uma arbórea nativa originária do Brasil, muito utilizada na medicina tradicional, principalmente no Nordeste brasileiro (SILVA, 2013).

Compreendendo em cerca de 60 a 70 gêneros e 400 a 600 espécies, o principal centro de diversidade do gênero *Anacardium* é a região Nordeste do Brasil. No entanto, pode-se encontrar na Amazônia e no Planalto Central. Os indígenas assim como a população em geral, habitantes autóctones do nordeste do Brasil, já conheciam o caju e faziam dele um de seus alimentos e usavam como forma de medicamento, onde a casca do caule, ramos, casca, pedúnculo, casca da castanha, raiz, frutos, sementes e as folhas do cajueiro são partes muito utilizadas, pois possui efeitos terapêuticos tais como: anestésico, anti-inflamatório antioxidantes, antimicrobiana, cicatrizante e afrodisíaco (SOUZA, 2007).

Assim, o cajueiro é uma árvore com arquitetura de copa tortuosa e de diferentes estruturas podendo ser do tipo comum e do tipo anão. O tipo de cajueiro comum pode atingir entre 5 e 12 metros de altura, mas em condições favoráveis pode chegar a 20 metros de altura. Já o cajueiro anão apresenta menor comprimento de panícula, em comparação ao tipo comum, o mesmo possui porte baixo raramente ultrapassa 5m de altura e apresenta maior comprimento de panícula (SOUZA, 2007).

Segundo Barros et al. (2000), o *Anacardium occidentale* L. é uma planta abundante, com ramificações baixas e tamanho médio, sua parte superior mais alta atinge uma altura média de 5 a 8 metros e um diâmetro médio entre 12 a 14 metros, atingindo até 15 metros de altura e diâmetro de copa maior que 20 metros, dependendo do genótipo e das condições do clima e do solo. Possui frutos, folhas simples, inteiras, alternadas, subcoriáceas, glabras e pecioladas curtas, medindo 10 a 20 cm de comprimento por 6 a 12 cm de largura.

Os principais produtos desta planta são a castanha de caju (fruta verdadeira) e a castanha de caju (pseudofruto), que possuem excelentes propriedades nutricionais e sensoriais. (VASCONCELOS et al., 2015; ARAÚJO et al., 2018).

O uso das plantas medicinais faz parte do convívio humano, o comércio informal de plantas medicinais tem se mantido e vem aumentando a cada dia no Brasil (DOURADO et al., 2005). Assim, as plantas medicinais produzem produtos químicos farmacológicos ativos para o corpo humano, contribuindo para suavizar alguns dos malefícios quando administrados (COAN, 2013).

Por outro lado, a sabedoria popular sob o uso e a eficácia das plantas medicinais é um fator de muita relevância quando se refere a divulgação das atribuições terapêuticas dos vegetais, indicados com frequência por seus efeitos curativos que produzem, apesar de nem sempre terem suas composições químicas comprovadas em todo o mundo, e particularmente nos países da América do Sul, onde o uso de plantas com propriedades medicinais constituem significativamente para os primeiros cuidados com a saúde (SILVA, 2010).

O uso dos fármacos à base de plantas medicinais surge como uma forte tendência mundial, esse evento é considerado um mercado promissor e representa valores expressivos, tornando-se um campo de negócio atrativo. Apesar de todo esse entusiasmo social e econômica, o Brasil não tem investimento suficiente na produção, industrialização e distribuição dessas plantas (COAN, 2013).

Neste sentido, o uso indiscriminado de plantas medicinais pode trazer algumas reações adversas, reações alérgicas ou até mesmo o surgimento de algumas doenças. Para obter total segurança e eficácia no uso de espécies vegetais com fins terapêuticos, é necessário haver base científica existente sobre as propriedades farmacológicas e sua toxicidade, entretanto, quando a planta utilizada causa efeitos colaterais à população, ela não poderá mais ser utilizada como planta medicinal, onde passa a ser conhecida como espécie tóxica (COAN, 2013; STERN, 2013).

Dito isso, esse trabalho surgiu para avaliar o extrato etanólico da casca do caule do cajueiro quanto suas propriedades antimicrobianas, a fim de descobrir novos compostos que

possam minimizar ou até mesmo curar doenças graves, utilizando as plantas medicinais de forma natural. Além de ter o menor custo econômico, diminui as chances de gerar resistência bacteriana.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca do caule do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), contra bactérias de importância médica.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar a triagem fitoquímica preliminar do extrato etanólico da casca do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.);
- Testar a atividade antimicrobiana do extrato etanólico da casca do caule do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) em diferentes concentrações;
- Avaliar o potencial antimicrobianos do extrato etanólico da casca do caule do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) frente as cepas bacterianas *Shigella flexneri*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis*;

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção da amostra e preparo do extrato

Para a obtenção da amostra vegetal *Anacardium occidentale L.* (casca do caule do cajueiro) obtido comercialmente, no município de Coari, localizado na região do médio Solimões do Estado do Amazonas, com uma distância de 368km em linha reta e 440km da capital Manaus. Os experimentos foram realizados nos seguintes locais: Laboratório de Microbiologia, Laboratório de Nutrição e Laboratório de Química Orgânica do Instituto de Saúde e Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas (MONTEIRO, et al., 2017).

Após a obtenção do material vegetal, as cascas do caule do cajueiro foram levadas ao Laboratório de Nutrição do ISB onde ocorreu a pesagem e trituração do material bruto. Para este processo foi necessário utilizar-se de um moinho de 4 facas. Posteriormente o material foi levado ao Laboratório de Química Orgânica para serem pesadas na balança semi-analítica, obtendo o peso de 435g.

Para a preparação do extrato etanólico da casca do caule do cajueiro (*Anacardium occidentale L.*), usou-se método de maceração a frio com álcool 70%, utilizou-se 200g da amostra em 1.750 mL de álcool 70%, (1.750 mL/200g) entre solvente/soluto e transferida para um erlenmeyer de 2.000 mL. A amostra do *Anacardium occidentale L.*, foi deixado em maceração, por três dias, a temperatura ambiente agitando o recipiente com a amostra em movimentos circulares diariamente (CHAVES et al, 2010).

Ao término do tempo de extração, o solvente foi filtrado em papel filtro, em seguida separou-se 40 mL do extrato para a análise fitoquímica preliminar, o restante do extrato obtido pela extração a partir do macerado, teve que ser levado à capela para passar pelo processo de evaporação do solvente. Para chegar nesse resultado, demorou aproximadamente uma semana. Logo após pesou-se o extrato seco totalizando em 27,3g posteriormente armazenado em frascos de antibióticos e levado ao frizer a temperatura de 20°C (FARIAS, 2013).

3.2 Triagem fitoquímica preliminar

A triagem fitoquímica foi baseada nos métodos de Mattos (2009), nos quais foram diluídos 40 mL do extrato etanólico do material vegetal em um frasco de 500 mL e adicionado 120 mL de água destilada homogeneizando. Para realizar essa análise os compostos fenólicos presentes no extrato foram dosados de acordo com a análise feita, 2 mL do extraído e 1mL do reagente e aos poucos foi dosado até obter o pH esperado.

Os reagentes utilizados para o teste fitoquímicos foram; cloreto férrico, Ácido clorídrico 0,25%, NaOH de sódio, Magnésio granulado e ácido clorídrico, NH₄OH 6mol/L, solução alcoólica 1N de KOH e NaCl. Esse teste ocorreu na proporção de 1:3 o pH=4.84 do extrato controle. Os testes fitoquímicos foram feitos com o medidor de pH ORP.

Esses ensaios foram realizados para os seguintes compostos: flavonóis, flavonas, flavononóis, xantonas para saponinas, presença de cumarinas, leucoantocianinas, catequinas, flavonas, fenóis, taninos, antocianinas, antocianidinas e flavonoides. Nesse contexto, os testes realizados são considerados positivos quando ocorre reações de precipitações, colorações e formações de precipitado. Com base nos dados obtidos, verificou-se a classe de metabolitos que apresentam expressividade.

3.3 Preparo do meio Ágar Mueller-Hinton

Para preparar o meio nutritivo Ágar *Mueller-Hinton* cada placa de Petri continha 15 mL de Ágar. Sendo necessário utilizar 9 placas de petri para cada TSA bacteriano, *Shigella flexneri*, *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*, 9 placas x 15 mL de meio = 135 mL de água destilada / 38g x 135 mL = 5,130 g ÷ 1000 mL = 5.13 g), após pesar 5.130g do meio MH e acrescentando no Erlenmeyer de 1000 mL, também foi adicionado 135mL de água destilada da Pisseta junto ao meio MH, misturando os mesmos até diluir por completo. Esse procedimento foi repetido para as outras bactérias.

Logo após, foram esterilizadas em garrafas a meia rosca, juntamente com os demais materiais necessários por aproximadamente 15 minutos a temperatura de 121°C, todos os procedimentos seguiram as normas técnicas do Laboratório, e com auxílio de luvas colocou-se o material esterilizado em uma bandeja e em seguida conduzido a câmara de fluxo laminar já esterilizada e para verter o meio foi preciso esperar esfriar as placas, método necessário para

impedir o excesso de umidade. Em seguida o meio foi vertido nas placas previamente esterilizadas, assim em cada placa foram adicionados 15mL do meio Ágar MH, esperando até o meio solidificar por completo, para então realizar o repique das bactérias, assim as placas foram identificadas contendo data, nome do meio nutritivo, nome do pesquisador e o nome de cada bactéria (BrCAST, 2021).

3.4 Repique das cepas bacterianas

A escolha dessas espécies bacterianas foi devido ao fato das mesmas apresentarem grande influência na presença das principais infecções hospitalares. A atividade antimicrobiana foi testada em três cepas de bactérias, a *Shigella flexneri*, *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa* através da técnica de difusão em disco. As amostras bacterianas foram doadas pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Amazonas do ISB-Coari.

Os repiques com o meio específico para cada bactéria:

- *Shigella flexneri*, corresponde ao meio nutritivo Ágar *Salmonella – Shigella flexneri* (SS). Este é um meio diferencial seletivo, utilizado para o isolamento bacteriano, especialmente *Salmonella* e *Shigella* (BRITO, G. F., 2022).
- *Pseudomonas aeruginosa* corresponde ao meio nutritivo Ágar Centrimide para bactérias Gram-negativa. É um meio de cultura seletor e específico para isolamento e identificação *Pseudomonas aeruginosa* (ANVISA, 2022).
- *Enterococcus Faecalis* corresponde ao meio nutritivo Ágar Bile Esculina, para bactérias Gram-positiva. A presença de bile no meio inibe o crescimento de microrganismos Gram negativos. A hidrólise da esculina em esculetina que reage com o Citrato férrico formando um complexo negro, o que garante a diferenciação entre os dois gêneros. Todos os meios nutritivos utilizados nesse experimento foram preparados de acordo com as instruções do fabricante, levando em consideração que cada placa de Petri foi adicionada 15 mL de Ágar (BRCAST, 2021).

Para o cultivo das cepas bacterianas, os meios foram preparados e aquecido em uma chapa aquecedora agitando até alcançar o ponto de ebulição de acordo com as instruções do fabricante. Nesse processo utilizou-se duas placas para cada teste bacteriano.

No Laboratório de Microbiologia os meios foram pesados e diluídos em água destilada, em seguida foram levados ao fluxo laminar e vertido nas placas previamente esterilizadas, assim

em cada placa foram adicionados 15 mL do meio, após o Ágar solidificar e assim fazer o repique bacteriano.

Selecionou-se uma colônia isolada da bactéria para realizar um novo repique em meio específico, assim fazer o cultivo de novas colônias das bactérias, para que fosse possível realizar a estria em outra placa com o meio específico para a bactéria de interesse, posicionando o *Swab* e fazendo o esfregaço no formato de estria com cuidado para não furar o meio nutritivo, o mesmo procedimento teve que ser realizado para o meio geral. Por fim, incubar as placas na estufa em posição invertida entre 18-24 horas a 37 ± 2 °C (FRANÇA,2007).

3.5 Preparo da solução salina e preparo do inóculo

A solução salina foi preparada na proporção de 0,85% de NaCl (PA) em cada 100 mL de solução. Para seu preparo utilizou-se 20 mL de água destilada ($20 \times 0,85\% \text{ sol.sal} = 17 \div 100 \text{ mL} = 0,17\text{g}$) de NaCl ficou dividido em 5 mL de solução salina para cada tubo de ensaio, utilizando 4 tubos. Após pesar 0.17g do NaCl, o mesmo foi transferido para um Beck, homogeneizado e adicionado à solução nos tubos e em seguida foi levado para ser autoclavados por 15 minutos (NCCLS,2002).

Três cepas bacterianas foram usadas no teste de atividade antimicrobiano, são elas: *Shigella flexneri*, *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*, com as cepas previamente preparadas, foram suspensas em solução salina, as suspensões bacterianas foram diluídas em solução salina estéril e padronizadas pela turbidez conforme a escala 0,5 de MacFarland: 0,5 mL, até que atingisse uma concentração próxima a $1,5 \times 10^8$ cel/mL, com turvação similar ao tubo #0,5 da escala de McFarland.

Assim, foram utilizadas 9 placas de Petri com meio de cultura Ágar *Muller Hinton* para cada espécie de bactéria, onde a inoculação foi realizada por meio de *Swabs*, e sobre os quais foram utilizados cinco discos de fusão de aproximadamente 6 mm de diâmetro. Em cada placa foi inserido cinco discos de fusão sendo três com o extrato, um como controle e o quinto continha o antibiótico (BRCAST, 2021).

3.6 Avaliação da atividade antimicrobiana

Os ensaios antimicrobianos foram realizados em triplicata através do método de difusão em disco de papel filtro de 6,0 mm de diâmetro em meio ágar *Mueller-Hinton*. Os Inóculos foram obtidos a partir de culturas recentes dos microrganismos (entre 18-24 h a 37 °C), preparando-se suspensões padronizadas através da escala 0,5 de MacFarland (OPLUSTIL et al., 2000; KONEMAN, 2001, (MONTEIRO A.S, et al., 2017). As placas foram identificadas com suas devidas concentrações e nome do meio, data e o nome do pesquisador.

Para o teste de atividade antimicrobiana pesou-se 750mg, 850mg e 950mg do extrato extraído por maceração em seguida diluiu-se 1 mL de álcool 70% para cada concentração citada a cima, em seguida foi homogeneizada. Os discos esteróis foram impregnados com extrato etanólico da casca do caule do *Anacardium occidentale L.*, nas concentrações [750mg/mL], [850mg/mL] e [950mg/mL], e para o teste controle o disco foi molhado com água destilada, usou-se um disco de antibiótico o PIPERACILINA+TAZOBACTAM PPT110 (NCCLS,2002). Após os discos estarem secos os mesmos foram transferidos para as placas de petri. As culturas com os discos foram incubadas a 37 °C por 24 h. Os resultados foram obtidos através da medição do diâmetro dos halos de inibição formados ao redor dos discos. Com auxílio de um Paquímetro os tamanhos dos halos de inibição do crescimento bacteriano foram expressos em milímetros (NCCLS, 2003, SALVARANI 2008),

4 RESULTADO E DISCUSSÃO

4.1 Resultado da Análise fitoquímica

Os processos da análise fitoquímica preliminar do extrato da casca do caule do *Anacardium occidentale* L. extraído a frio resultaram em extratos de coloração laranja intenso. Foram observados resultados positivos (+) para: Taninos, flavonoides, fenóis, flavononas, quinonas e leucoantocianidinas, indicando que os mesmos compostos podem ser responsáveis pela atividade antimicrobiana detectada para estas plantas no presente estudo (SILVA, 2017; RIBEIRO, 2016).

Assim a análise fitoquímica visa destacar as importantes classes de constituintes químicos presentes na espécie a partir do extrato etanólico da casca do caule do cajueiro, sendo utilizados solventes específicos para cada classe. No que diz respeito aos fitos constituintes citados, há um interesse crescente no uso de taninos, possíveis agentes antimicrobianos como comprovado no extrato desta planta, pois o extrato vegetal testado apresentou-se atividade antimicrobiana positiva para microrganismos de cepa resistente, validando o potencial terapêutico dessa espécie. (VASCONCELOS et al., 2006, MATOS, 2009). Os resultados observados a partir das análises fitoquímicas estão representados na Tabela 1.

Tabela 01. Resultados das análises fitoquímicas.

CLASSIFICAÇÃO METABÓLICA	RESULTADO
Cumarinas	-
Saponinas	-
Fenóis	+
Taninos	+
Antocianinas	-
Antocianidinas	-
Flavonoides	+
Flavononas	+
Flavanonós	-
Leucoantocianidinas	+
Xantonas	-
Quinonas	+
Catequinas	-

4.2 Resultado da atividade antimicrobiana do extrato etanólico

Os ensaios de atividade antimicrobiana mostraram que o extrato etanólico da *Anacardium occidentale L.* inibiu o crescimento das cepas *Shigella flexneri* e *Enterococcus faecalis*, no entanto, não foi capaz de inibir o crescimento da cepa *Pseudomonas aeruginosa*.

As culturas de *Enterococcus faecalis* e *Shigella flexneri* apresentaram halos crescentes de inibição de crescimento bacteriano, de acordo as concentrações testadas (750 mg/mL= 10,9 mm; 850mg/mL=11,4 mm; 950 mg/mL=12,3 mm), e *Enterococcus faecalis* (750 mg/mL= 12,1 mm; 850mg/mL=12,3 mm; 950 mg/mL=12,2 mm), O extrato não apresentou halos de inibição frente a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*. Como podemos observar nas tabelas 2, 3 e 4.

Tabela 02. Resultado do extrato etanólico frente à cepa *Shigella flexneri*.

Extrato etanólico da Casca do caju	Halos mm (Discos com extrato)	Halos mm (Antibióticos)
[750] mg/mL	10.99	21.66
[850] mg/mL	11.44	23.66
[950] mg/mL	12.33	25.33

Tabela 03. Resultado do extrato etanólico frente à cepa *Enterococcus faecalis*.

Extrato etanólico da Casca do caju	Halos mm (Discos com extrato)	Halos mm (Antibióticos)
[750] mg/mL	12.11	23.10
[850] mg/mL	12.33	21.66
[950] mg/mL	12.21	23.66

Tabela 04. Resultado do extrato etanólico frente à cepa *Pseudomonas aeruginosa*.

Extrato etanólico da Casca do caju	Halos
[750] mg/mL	Não houve
[850] mg/mL	Não houve
[950] mg/mL	Não houve

Assim, com a atividade antimicrobiana da *A. occidentale* L. a partir de estudos realizados com o extrato da casca desta planta, observou-se excelentes resultados contra bactérias resistentes a antibióticos (AKINPEL 2001).

Dessa maneira, os resultados da atividade antimicrobiana confirmam o uso etnomedicinal com finalidade anti-inflamatória e cicatrizante desta planta. Os componentes vegetais testados apresentaram ação antimicrobiana para micro-organismos de cepa resistente, confirmando o potencial terapêutico dessa espécie. Neste contexto, considera-se que alguns metabólitos secundários como taninos por estarem associados ao bloqueio de enzimas bacterianas (Araújo, 2018). Assim, o extrato da casca do caule do cajueiro, contém grande potencial antimicrobiano contra algumas espécies de bactérias (Silva et al., 2007; Freire et al., 2017; Monteiro et al., 2017; Pereira et al., 2015).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao analisar os extratos foi possível observar o potencial antimicrobiano da casca do caule do cajueiro frente as bactérias de importância médica. Vale ressaltar que, nas condições testadas o material vegetal mostrou-se promissor quanto a atividade antimicrobiana, principalmente avaliando as classes de metabólitos encontradas.

No entanto, estudos futuros são necessários para determinar o perfil químico do extrato etanólico, as concentrações inibitórias mínimas bem como realizar testes de citotoxicidade e genotoxicidade. Por fim, só assim a população poderá usufruir de todos os benéficos fitoquímicos que o *Anacardium occidentale* L. tem a proporcionar como planta medicinal, por ser abundante e de fácil acesso sendo encontrada em grande parte do território brasileiro.

6 REFERÊNCIAS

ARAÚJO, S., et al. **Aplicações Farmacológicas e Tecnológicas da Goma do Cajueiro (Anacardium Occidentale L)** – um Produto Obtido da Flora Brasileira, 2018.

A.S.MONTEIRO, R.C.E.; eP.M.ALBUQUERQUE. **Estudo da atividade antimicrobiana da casca da castanha de caju (Anacardium Occidentale)** 2017.

ARAÚJO, T. S. L., et al. **Antidiarrheal activity of cashew GUM, a complex heteropolysaccharide extracted from exudate of Anacardium occidentale L.** In rodents. Journal of Ethnopharmacology, 2015.

ARAÚJO E.C, Oliveira R.A.G.; **Uso de plantas medicinais pelos pacientes com câncer de hospitais da rede pública de saúde em João Pessoa (PB).** Revista Espaço para a Saúde, 2007.

ARAÚJO, J. S. C., Castilho, A. R. F.; **Antibacterial activity against cariogenic bacteria and cytotoxic and genotoxic potential of Anacardium occidentale L. and Anadenanthera macrocarpa (Benth.) Brenan extracts,** 2018.

AMOROZO, M.C.M. **Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antônio do Leverger, MT, Brasil.** Acta Bot. Bras. v16, 2002.

AKERELE O.; **SUMMARY of WHO guidelines for assessment of herbal medicines.** HerbalGram, 1993.

ANVISA, 10097010-134 **LB LABORCLIN, meio Ágar Centrimide para isolamento e identificação presuntiva de Pseudomonas** 2022.

BARROS, L. D. M.; **Seleção de clones de cajueiro-anão para o plantio comercial no Estado do Ceará.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, 2000.

BRUNING, M. C. R.; **A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavel e Foz do Iguaçu - Paraná: a visão dos profissionais de saúde,** 2012.

BRASIL. **Ministério da Saúde.** Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

BRCAS, **preparo de meios para o teste de disco-difusão do BrCAST-EUCAS** e para a determinação dos valores de concentração inibitória mínima pelo método de microdiluição em caldo, 2021.

CHAVES, M. H.; **Fenóis totais, atividade antioxidante e constituintes químicos de extratos de Anacardium occidentale L., Anacardiácea.** Revista Brasileira de Farmacognosia, v.20, 2010.

COAN1, CH.M.; Matias2; T; **A utilização das plantas medicinais pela comunidade indígena de ventarra alta- RS**, Rev. Rei de educação do Ideau, v 8, 2013.

BRITO. G. F.; A.; **Mbiolog diagnóstico. Instruções de uso do Ágar *Salmonella/Shigella***, 2022.

DANTAS¹, T. et al. **O uso indiscriminado de antibióticos e resistência bacteriana, ii congresso brasileiro de ciência da saúde**, 2017.

DOURADO, E.R., et al. **Comercialização de plantas medicinais por “raizeiros” na cidade de Anápolis-GO**. Revista Eletrônica de Farmácia Suplemento, Vol 2 (2), 67-69, 2005.

FREIRE, J. C. P.; **Estudo etnobotânico do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.): UMA Árvore nativa do Brasil ethnobotanical study of cashew tree (*Anacardium occidentale* L) A tree native to Brazil**, 2017.

FRANÇA, F. C. F. **Síntese e caracterização de surfactantes glicosídicos a partir da amilose e aquilfenóis extraídos do LCC**. Dissertação, Fortaleza, Ceará, 2007.

JÚNIOR¹; F. et al. **conidis, I congresso internacional da diversidade do semiárido *Anacardium occidentale* (cajueiro) e seu potencial antimicrobiano: uma revisão**. No site: contato@conidis.com.br, 2017.

MONTEIRO¹, R. et al. **Estudo da atividade antimicrobiana da casca da castanha de caju (*Anacardium occidentale*)** *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, 2017.

MATTOS, G.; **Medicinal plants and herbal medicines in primary health care: The perception of the professionals**. *Ciencia e Saude Coletiva*, 2018.

MENEZES F, A. C. P.; **Identificação de classes metabólicas secundárias em extratos etanólicos foliares de *Byrsonima verbascifolia*, *Cardiopetalum calophyllum*, *Curatella americana* e *Qualea grandiflora***. *Coloquium Agrariae*, 2010.

MARINHO M.L.; **A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular**. Rev. Bras. Pl. Med, 2007.

MAZZETTO, S.L. et al. **Óleo da Castanha de caju: Oportunidades e Desafios no Contexto do desenvolvimento e Sustentabilidade industrial**. *Química Nova*, v.32, 2002.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. Edições UFC, 2009.

NCCLS (NATIONAL committee for clinical laboratory standards). **Método de referência para testes de diluição em caldo para determinação da Sensibilidade de leveduras à terapia antifúngica**: v.22, n.15, 2002.

PEREIRA¹, A. et al. **Taninos da casca do Cajueiro: atividade antimicrobiana**, *Revista AGROTEC* – v. 36, 2015.

PEDROSO, M.T.R; **uso indiscriminado de antibióticos e resistência bacteriana**. Rev. Agropecuária. Faculdade de Pindamonhangaba. 2013.

Preparação de meios de cultura/ Acesso em 28 de agosto de 2018 em site: [https://www.aula 5.1 preparações de meios de cultura](https://www.aula51.com.br/preparacoes-de-meios-de-cultura).

Organização mundial de saúde. **Traditional medicine: definitions**. 2008. Disponível em: <http://www.who.int/medicines/areas/traditional/definitions/en/>>. Acessado em: 28 de Agosto de 2022, 2013.

Oplustil CP, Zoccoli CM, Tobuti NR, Sinto SI 2000. **Procedimentos básicos em microbiologia clínica**. São Paulo: Sarvier.

RIBEIRO, N.C. **caracterização química e de atividade biológica de anacardium microcarpum ducke e anacardium occidentale L.** (anacardiaceae) no estado do piaui, brasil. 2016.

SILVA, A. C. A.; **os riscos do uso de plantas medicinais durante o período gestacional: uma revisão bibliográfica**. Acta Toxicológica Argentina, 26(3), 118–123. Recuperar de SILVA, P.G. Perfil fotoquímico e atividades antifúngica e citotóxica in vitro da Schinus terebinthifolius Raddi, 2017.

SILVA1, A.E.S; **Análise fotoquímica das cascas do caule do cajueiro (Anacardium occidentale L. – Anacardiaceae)**, v. 3, acesso no site: <http://periodicos.unifap.br/index.php/estacao>, 2013.

SILVA, N.C.C; **Estudo comparativo da ação antimicrobiana de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais e sinergismo com drogas antimicrobianas**, Rev. Instituto de biociências, 2010.

SILVA, J. G.; **Atividade antimicrobiana do extrato de Anacardium occidentale Linn. em amostras multiresistentes de Staphylococcus aureus**. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 2007.

SOUSAI, L. et al. **Aspectos de biologia floral de cajueiros anão precoce e comum (anacardium occidentale)**, Sousa et al. ISSN 0103-8478, Rev. Ciência Rural, v.37, n.3, maijun, 2007.

VEIGA J, V.F.; PINTO, A.C.; MACIEL, A.M.; **Plantas medicinais: cura segura? Química Nova**, v.28, n.3, p.519-28, 2005.

Quim. Nova, **A fitoterapia no mundo atual** Ildefonso Junior, J., & Monteiro, Á. B. (2020). **Plantas medicinais e fitoterápicos úteis na odontologia clínica: uma revisão**. Rev Fac Odontol Univ Fed Bahia, 2020.

KONEMAN EW 2001. **Diagnóstico microbiológico**. 5.ed. Rio de Janeiro: MEDSI, p.551578.