

ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE *Brassica oleracea* var. *capitata* EM MODELOS EXPERIMENTAIS *IN VITRO*

Thaís Viana Fialho Martins¹; Patrícia Saraiva Vilas Boas de Almeida¹; Leandro Licursi de Oliveira²; Marilane de Oliveira Fani Amaro²; Valéria Dal Prá³; Marcio Mazutti³; Marcelo Barcellos da Rosa³; **Camilo Amaro de Carvalho^{1*}**

¹Departamento de Farmácia - FITOFÁRMACOS, União de Ensino Superior de Viçosa-UNIVIÇOSA, Av. Maria de Paula Santana 3815, Bairro Silvestre, 36570-000, Viçosa-MG, Brasil
(tata_fialho@yahoo.com.br, pvilasboas@yahoo.com.br, camiloamaro@yahoo.com.br);

²Departamento de Biologia Geral, Universidade Federal de Viçosa-UFV, Av.P.H. Rolfs, s/n, Campus Universitário, 36570-000, Viçosa-MG, Brasil.
(leandro.licursi@ufv.br, marilaneamaro@yahoo.com.br);

³Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF/UFSM), Av. Roraima 1000, Camobi, 97105-900, Santa Maria-RS, Brasil.
(vdpdalpra@gmail.com, marciomazutti@gmail.com, marcelobdarosa@gmail.com).

Autor para correspondência: camiloamaro@yahoo.com.br

RESUMO

A capacidade dos microrganismos, em especial, das bactérias se tornarem resistentes, tem sido amplamente abordada em diversas publicações, e as plantas são uma das fontes para busca de novos medicamentos, que a cada dia vem se tornando mais necessário. Este trabalho, teve por objetivo avaliar diversas formas de preparação de extratos de *Brassica oleracea* var. *capitata* e testá-las frente a cepa de *Staphylococcus aureus* utilizando ensaio em meio sólido por difusão em ágar, e em meio líquido em placa de ELISA. Os testes revelaram que extratos obtidos por decocção e extração em solvente hidroalcoólico ácido possuem maior apelo para a busca de novos fármacos com atividade frente a *S. aureus*, sendo que deste último as frações obtidas por partição líquido-líquido referentes aos solventes acetato de etila, diclorometano e a fração hidroalcoólica remanescente apresentaram mais eficientes. Já para o meio sólido, verificou-se uma ausência de atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico. Entretanto, uma considerável atividade antibacteriana foi evidenciada nos mesmos extratos quando analisados em meio líquido. Os extratos com concentrações etanólica de 50 e 70% revelaram melhores resultados quando avaliados por 8h de incubação. Resultados diferentes foram observados quando o período foi dobrado, onde as concentrações mais expressivas passaram a ser as de 70 e 80%. Os resultados demonstram que a espécie é uma potencial fonte de agentes antibacterianos. Entretanto, a escolha do solvente, o método de extração e o meio de crescimento bacteriano devem ser considerados. Os dados aqui evidenciados motiva posteriores estudos para o isolamento e identificação dos princípios ativos responsáveis pela atividade antibacteriana que podem ser usadas na indústria farmacêutica, visto o grande número de resistência às drogas antibacterianas já existentes.

Palavras-chave: Agentes Antibacterianos, Plantas medicinais, medicina tradicional, Fitoterapia, Brassica.

ABSTRACT

The ability of microorganisms, especially bacteria become resistant, has been widely discussed in various publications, and plants are one source to search for new drugs that each day has become more necessary. This work aimed to evaluate different ways of preparing extracts of *Brassica oleracea* var. *capitata* and test them fronts strain of *Staphylococcus aureus* using the test on solid medium by diffusion in agar and in liquid medium in the ELISA plate. Tests revealed that extracts obtained by solvent extraction and decoction hydroalcoholic acid have greater appeal to the search for new drugs with activity against *S. aureus*, and the latter fractions obtained by liquid-liquid partition relating to solvents ethyl acetate, dichloromethane and hydroalcoholic remaining fraction showed more efficient. As for the solid medium, there was a lack of antibacterial activity of hydroalcoholic extract. However, a strong antibacterial activity was observed when analyzed in the same extracts in liquid medium. Ethanolic extracts with concentrations of 50 and 70% showed better results when evaluated for 8 h of incubation. Different results were observed when the period was bent where the concentrations became more expressive of the 70 and 80%. The results demonstrate that the species is a potential source of antibacterial agents. However, the choice of solvent, the extraction method and the bacterial growth medium should be considered. The data shown here motivates further studies for the isolation and identification of the active principles responsible for the antibacterial activity that can be used in the pharmaceutical industry, because of the large number of resistance to existing antibacterial drugs.

Key-words: Anti-Bacterial Agents, Plants Medicinal, Medicine Traditional, Phytotherapy, Brassica.

INTRODUÇÃO

As plantas medicinais representam fator de grande importância para a manutenção das condições de saúde da população mundial^(1,2). As espécies vegetais têm sido utilizadas por longos anos sendo seus extratos e preparações administradas na tentativa de tratar doenças, bem como aliviar sintomas⁽³⁾. Estes procedimentos têm sido mantidos por gerações devido ao baixo custo das plantas medicinais e baixos efeitos colaterais⁽⁴⁾.

Esta fonte se torna mais valiosa quando considerado que as espécies vegetais são ricas em uma ampla variedade de metabólitos secundários, tais como os taninos, terpenos, alcalóides e flavonóides, que têm sido estudados por seu potencial antimicrobiano *in vitro*⁽⁶⁾.

Porém, o desenvolvimento de resistência aos antimicrobianos por diversos patógenos vem aumentando a cada dia, tornando-se de grande importância à pesquisa de novos agentes para o combate de infecções.

A *Brassica oleracea* var. *capitata* é uma hortaliça anual herbácea da família Brassicaceae e tem como região de origem a Costa Norte Mediterrânea, Ásia Menor e Costa Ocidental Européia. A família *Brassicaceae* compreende aproximadamente 350 gêneros e 3000 espécies, distribuídas em todo o mundo, mas principalmente em regiões de clima temperado⁽⁹⁾. Constitui a família botânica que abrange o maior número de culturas oleráceas, ocupando lugar proeminente na olericultura do centro-sul do Brasil⁽¹¹⁾.

No Brasil, *Brassica oleracea* var. *capitata* vem sendo utilizada como produto cicatrizante ressaltando o seu uso em casos de diabetes, visto que o quadro clínico de dificuldade de

cicatrização decorrente da doença é comprovado. Vários estudos têm sido realizados, como de toxicidade e análise histológica, microbiológicos, bioensaios comparativos com outros produtos cicatrizantes, com a finalidade de comprovação científica dos efeitos fitoterápicos da *Brassica oleracea* var. *capitata*^(12,13).

A atividade antiulcerogênica de *Brassica oleracea* var. *capitata*, também foi comprovada por Carvalho⁽¹⁷⁾, ao tratar ratos Wistar durante 7 dias com extrato aquoso da espécie.

Dentre os fatores relacionados com o atraso e a dificuldade de cicatrização estão às bactérias *H. pylori*, na mucosa gástrica, e *S. aureus* na epiderme. Baseando-se em todos esses dados o âmbito dessa pesquisa é aprofundar os estudos na busca de possíveis alternativas de tratamento de infecções bacterianas através do estudo da atividade antibacteriana de diferentes extratos de *Brassica oleracea* var. *capitata* frente a cepa de *Staphylococcus aureus*. O experimento também teve por objetivo comparar a influência do modo de preparo dos extratos.

MATERIAL E MÉTODOS

Material botânico

As folhas de *Brassica oleracea* variedade *capitata* (Repolho), no estágio fenológico IX, conforme descrição de Carvalho et al.⁽¹²⁾, foram obtidas comercialmente em Viçosa (20°45'14" de latitude S, e 42°52'54" de longitude W), Minas Gerais, Brasil. O estágio fenológico foi escolhido de modo que representasse as condições conforme o uso popular.

As folhas de repolho foram lavadas em água corrente, trituradas e divididas em duas amostras: uma destinada à retirada total da água para posterior preparo dos extratos⁽¹⁸⁾; e uma segunda amostra da planta fresca/crua foi triturada em grau de porcelana e destinada a preparar extratos com a espécie na forma *in natura*⁽¹⁹⁾.

Todos os solventes e modos de extração foram utilizados para verificação de possível interferência sobre o crescimento bacteriano de *S. aureus*.

Preparo dos Extratos

Extratos da espécie preparados após secagem

Folhas de *B. oleracea* var. *capitata* foram destinadas à desidratação em estufa de ar circulante (50±5°C) por 5 dias e trituradas em grau de porcelana para posterior preparo dos extratos, conforme descrição por Simões et al.⁽¹⁸⁾. Os extratos foram divididos em: etanólico, hidroalcoólico (0 a 100%) e hidroalcoólico ácido pH 4.

Extrato Etanólico

Uma amostra de 10g da planta seca foi adicionada a 40mL de álcool etílico (P.A.) absoluto (25% - m/v), e macerado por 24h sob agitação constante à temperatura ambiente (28°C). O extrato foi filtrado a vácuo, recolhido e levado a evaporador rotatório (35°C) com baixa pressão para total retirada total do solvente. A porção extraída foi ressuspensa em 2mL de água destilada. Desta foi retirada uma alíquota de 10µL, para a avaliação da atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*.

Extratos Hidroalcoólicos

Foram feitas soluções hidroalcoólicas variando a concentração etanólica de 0 a 100% (v/v) com intervalos de 10%, utilizando-se álcool etílico absoluto e água destilada. A extração ocorreu durante 24h e sob agitação constante à temperatura ambiente (28°C). Os extratos foram filtrados à vácuo.

A total remoção do solvente dos extratos foi realizada em estufa a 55°C por 24h. Uma alíquota de 10µL de cada extrato foi utilizada para a avaliação da atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*.

Extrato Hidroalcoólico Ácido

Extratos de *Brassica oleracea* var. *capitata* a 25% (m/v) de planta seca, foram preparados com uma solução de ácido acético:etanol (4:1) em pH 4. A extração ocorreu durante 24h e sob agitação constante à temperatura ambiente (28°C). Os extratos foram filtrados à vácuo.

A total remoção do solvente dos extratos foi realizada em estufa a 55°C por 24h e ressuspenso em água. Desta, foi retirada uma alíquota de 10µL para a avaliação da atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*.

Extrato Hidroalcoólico Ácido Submetido a Processo de Partição Líquido-Líquido

O procedimento de partição líquido-líquido foi realizado conforme o esquema (Figura 1).

A uma amostra de 500µL do extrato hidroalcoólico ácido, previamente descrito, foram adicionados 300µL de diclorometano (P.A.) e agitou-se por 30 segundos. Após a separação de fases, a alíquota correspondente ao solvente foi retirada (Fase I).

Sobre a fração restante (Fase II), verteu-se 300µL de acetato de etila, agitou-se por 30 segundos e retirou-se a fração correspondente ao solvente (Fase III). À fase restante (Fase IV) foram adicionados 300µL de hexano. Em seguida, as frações formadas (Fase V e VI) foram reservadas.

A total remoção do solvente dos extratos foi realizada em estufa a 55°C por 24h e ressuspenso em água. De cada amostra (Fases I, III, V e VI) foi retirada uma alíquota de 10µL para a avaliação da atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*.

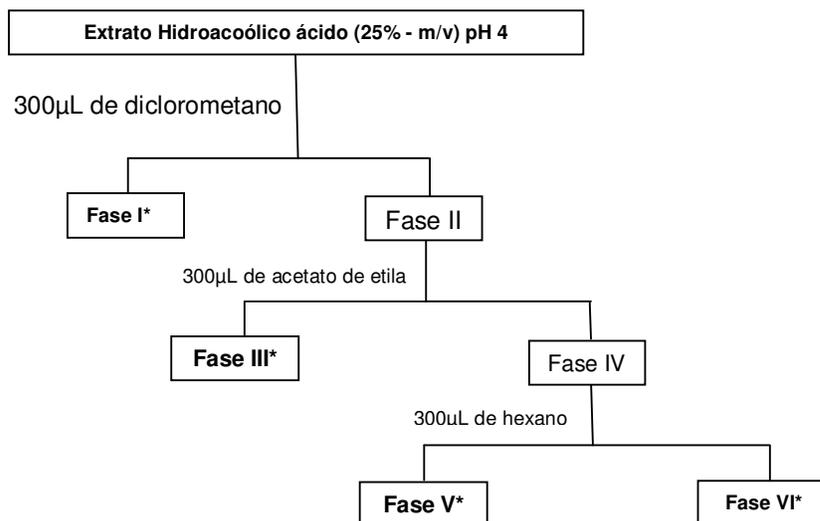


FIGURA 1. Esquema de procedimento de extração por partição líquido-líquido. (*) Fases utilizadas para a avaliação.

Extratos frescos/cru da espécie

Com a finalidade de reproduzir as formas convencionais, utilizada pela população conforme descrição⁽¹⁹⁾, uma segunda amostra da planta fresca/crua foi triturada em grau de porcelana e destinada a preparar extratos com a espécie na forma *in natura*. Estes, foram preparados na forma de extratos por decocção, infuso e turbilhonamento. De cada um dos extratos descritos abaixo, uma alíquota de 10µL foi retirada para a avaliada da atividade antimicrobiana frente a *S. aureus*.

Extração por Decocção

Um extrato aquoso de folhas frescas de *Brassica oleracea* var. *capitata* foi preparado à 25% (m/v). Em seguida o extrato foi aquecido à fervura por 5 minutos. Foi filtrado à temperatura ambiente para posterior avaliação da atividade antibacteriana frente a *S. aureus*.

Extração por Infusão

Adicionou-se partes de planta fresca e triturada em de água fervendo (25% - m/v), mantendo-o em repouso por 5 minutos para extração. Logo em seguida o extrato foi resfriado em banho de água e em seguida filtrado à temperatura ambiente para posterior avaliação da atividade antibacteriana frente a *S. aureus*.

Extração por Turbolização

Uma alíquota da espécie fresca foi triturada em grau de porcelana contendo água como solvente (25% -m/v). O extrato foi prensado por 5 minutos, afim de permitir a liberação máxima dos fitoconstituintes. Posteriormente foi avaliado a atividade antibacteriana frente a *S. aureus*.

Avaliação da Atividade Antimicrobiana

Bactérias

A bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 foi fornecida pelo laboratório de Biologia Molecular – DBB/UFV, que mantém cultura deste micro-organismo como rotina. Essas bactérias foram congeladas a – 20°C em meio de cultura contendo glicerol. Para isso, as culturas foram inoculadas em tubos contendo LB (Luria-Bertani) na forma de caldo e incubadas a 37°C durante 24h. Posteriormente, alíquotas de 0,5mL foram transferidas para tubos de microcentrífuga adicionados de 0,5mL de glicerol 87% estéril.

A cultura foi descongelada, estriada por esgotamento em placa contendo meio Mueller Hinton e em seguida encubado em estufa a 37°C por 24 h, para ser posteriormente utilizada na avaliação da atividade antimicrobiana por ensaio de difusão em ágar.

Já para o teste antimicrobiano em meio LB líquido, a cultura foi descongelada, e desta foi retirada uma alíquota de 10µL, que foi ressuspensa em 5mL do próprio meio utilizado para o teste e encubado nas mesmas condições descritas anteriormente. Todas as colônias foram periodicamente renovadas.

Ensaio em Meio Sólido por Difusão em Agar

Colônias de *S. aureus* presente nas placas estriadas, foram transferidas para salina 0,9% chegando a concentração bacteriana de 10^8 UFC.mL⁻¹ (0,5 na escala de McFarland). Alíquotas de 0,5mL dessa suspensão foram adicionadas a 12,5mL de meio Muller Hinton fundido (\pm 45°C). A mistura foi vertida em placa de Petri. Foram feitos poços de 3mm no meio solidificado, onde foram adicionados alíquotas de 10 μ L das amostras testadas. O controle para ausência de crescimento foi feito com a gentamicina 4mg.mL⁻¹ e para o crescimento pleno, foi utilizado a salina 0,9% estéril, adicionados as placas testes. A placa foi incubada a 37°C por 24h. A atividade antimicrobiana foi avaliada pela observação da inibição do crescimento da bactéria através de halos formados na placa.

Ensaio em Meio Líquido em Placa de ELISA

A atividade antimicrobiana foi avaliada medindo-se a densidade óptica dos meios, em um comprimento de onda de 600nm. Inicialmente, alíquotas de 200 μ L dos extratos preparados variando a concentração hidroalcoólica foram separadas e levadas à estufa a 55°C para evaporação do solvente restando-se apenas pellets para garantia de que não houvesse influência do álcool sobre o experimento. Após a evaporação os extratos, permaneceram sob luz UV em capela de fluxo laminar por período de 1 h para a esterilização da amostra. Estes pellets foram ressuspensos em 200 μ L de meio LB.

Para o crescimento pleno das bactérias, alíquotas de 10 μ L de meio LB previamente preparado contendo as bactérias eram adicionadas a um novo meio e já no controle da ausência de crescimento bacteriano, foi utilizado 10 μ L de gentamicina 4mg.mL⁻¹, adicionados ao poço que continha também 50 μ L meio com bactérias. Como branco foram utilizados alíquotas de meio LB puro. Os testes foram realizados em triplicata utilizando-se placa de ELISA como descrito na Tabela1.

O experimento foi realizado em capela de fluxo laminar garantindo a não contaminação da placa. A placa foi incubada a 37°C por 8 h e foi realizada a leitura da absorbância em leitor de placa de ELISA a 600nm (ELISA VERSA MAX - Microplate Eader®).

Para avaliar o efeito do extrato sobre a influência do tempo de incubação sobre o crescimento bacteriano, o experimento foi realizado em um período de 8 e 16 horas de incubação.

TABELA 1. Preparo da placa para avaliação da inibição do crescimento bacteriano em meio líquido dos extratos de *Brassica oleracea* var. *capitata*.

Testes	LB	Meio e <i>S. aureus</i>	Gentamicina 4mg.mL ⁻¹	Extratos
C0	200µl	-	-	-
C-	150µl	50µl	-	-
C+	140µl	50µl	10µl	-
0%	100µl	50µl	-	50µl
10%	100µl	50µl	-	50µl
20%	100µl	50µl	-	50µl
30%	100µl	50µl	-	50µl
40%	100µl	50µl	-	50µl
50%	100µl	50µl	-	50µl
60%	100µl	50µl	-	50µl
70%	100µl	50µl	-	50µl
80%	100µl	50µl	-	50µl
90%	100µl	50µl	-	50µl
100%	100µl	50µl	-	50µl

C0 – Somente LB (Luria-Bertani); (C+) – Controle positivo; (C-) – Controle negativo.

Análise Estatística

Para interpretação dos resultados da atividade antibacteriana dos diversos extratos em concentrações hidroalcoólicas diferentes, foi realizada análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao realizar os testes de atividade antibacteriana frente *S. aureus*, os extratos obtidos a partir da utilização da planta fresca por turbolização e infusão, não apresentaram halos de inibição do crescimento. Já o extrato obtido através de decocção exibiu halos de 9 mm referentes à inibição bacteriana (Figura 2). Corroborando com estes dados Gnoatto e colaboradores⁽²⁰⁾ ao realizar testes comparando os métodos de extração em Soxhlet e decocção, para a planta *Ilex paraguariensis* (Erva mate), observaram a superioridade da decocção em relação à extração por Soxhlet.

Os processos de extração dependem, em grande parte, da temperatura uma vez que o aumento desta, provoca um aumento da solubilidade de qualquer substância⁽¹⁸⁾. Entretanto, o calor nem sempre pode ser empregado já que muitas substâncias são instáveis às altas temperaturas.

Considerando os estudos realizados por Gnoatto et al.⁽²⁰⁾ e os resultados obtidos nesta pesquisa para comparação entre os três métodos extrativos (Figura 2), pode-se dizer que a temperatura é um fator de suma importância para o processo de extração. Tal resultado apoia as conclusões de Astill et al.⁽²¹⁾, que consideraram a temperatura como o fator que mais contribuiu para a eficiência da extração dos bioativos de amostras de chás.

O extrato etanólico bruto (25% - m/v) macerado por 24h sob agitação constante à temperatura ambiente (28°C) não apresentou atividade antibacteriana. Já o extrato hidroalcoólico ácido (pH 4) apresentou atividade demonstrada através da formação de um halo de inibição de crescimento bacteriano de 24 mm (Figura 2).

O etanol é responsável pela extração de compostos como agliconas, ceras, sapogeninas, iridóides e sesquiterpenos e a água, por extrair substâncias hidrofílicas como aminoácidos, açúcares, alcalóides, saponinas, heterosídeos flavonoídicos e mucilagens⁽¹⁸⁾. Portanto a não obtenção de um halo de inibição bacteriana do extrato etanólico bruto de *Brassica oleracea* var. *capitata* pode ser justificada uma vez que grande parte dos compostos presentes nesta planta não são extraídos por etanol absoluto.

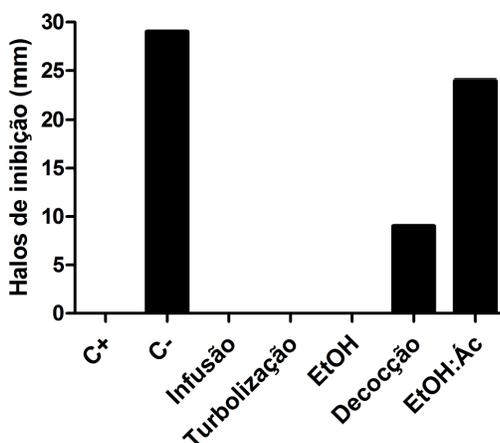


FIGURA 2. Atividade antibacteriana de extratos de *Brassica oleracea* var. *capitata* frente a *S. aureus*. EtOH - Extrato etanólico; EtOH:Ác. - Extrato hidroalcoólico ácido (pH 4); (C+) – Controle positivo (gentamicina 4mg.mL⁻¹); (C-) - Controle negativo (solventes).

A acidificação utilizada na extração conduzem a maiores rendimentos de metabólitos extraídos, o que está provavelmente relacionado com a descomplexação e à protonação das moléculas em meio ácido, tornando-os muito mais solúveis em água. Além disso, o uso do solvente em pH ácido é capaz de tornar as moléculas alcalinas mais solúveis no meio extrativo⁽²⁰⁾, o que poderia justificar a atividade observada.

O uso do solvente hidroalcoólico apresenta uma maior eficiência, melhorando em princípio a solubilidade das substâncias semi-polares como é o caso dos alcaloides e flavonoides⁽²²⁾, entre outros metabólitos secundários que poderiam estar relacionados com atividade antibacteriana. Sendo fundamental no processo de extração, pois é responsável por selecionar e determinar as substâncias a serem extraídas, de acordo com suas características químicas e de polaridade⁽²³⁾. Estes estudos justificam a utilização de uma solução hidroalcoólica acidificada para que haja uma maior eficiência no processo de extração de compostos bioativos de plantas, o que fica demonstrado através dos resultados obtidos.

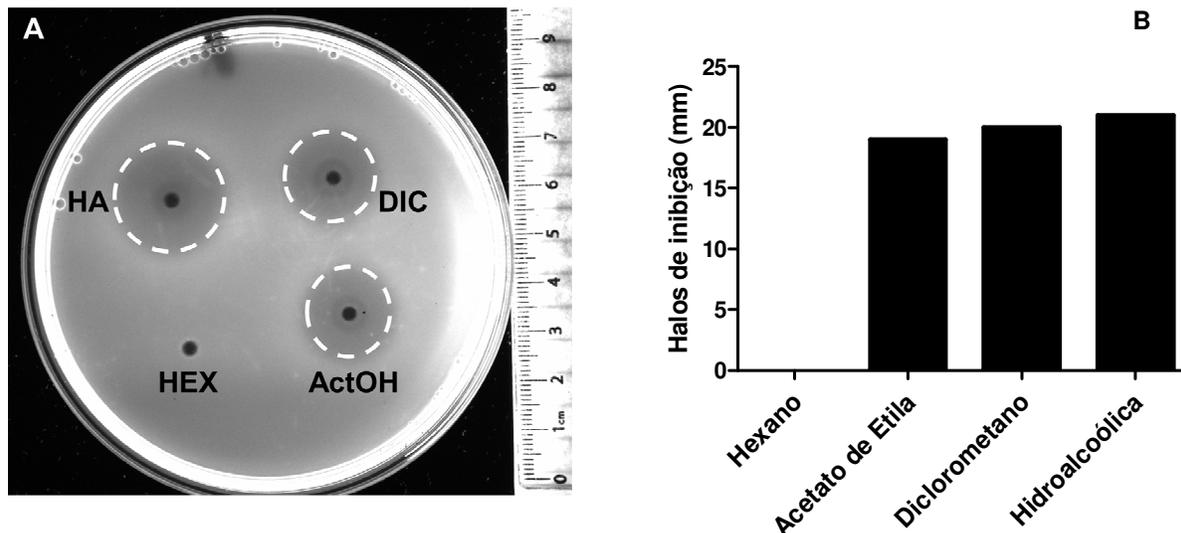


FIGURA 3. Atividade antibacteriana de frações do extrato de *Brassica oleracea* var. *capitata*. A - Halos de inibição em meio sólido; B - Frações: DIC – diclorometano; HEX - hexano; ActOH - acetato de etila e HA - Hidroalcoólica remanescente utilizados em partição líquido-líquido feita a partir do extrato hidroalcoólico ácido (pH 4).

Posteriormente a uma extração hidroalcoólica, o extrato deve ser submetido a um processo de partição líquido-líquido, com solventes de polaridades crescentes, como hexano, diclorometano, acetato de etila e butanol, visando uma semi-purificação das substâncias através de suas polaridades. No sentido de localizar os princípios ativos, todos os extratos semi-puros devem ser testados e aquele que apresentar efeito biológico de interesse, poderá ser submetido aos procedimentos cromatográficos para o isolamento e a purificação dos compostos⁽²⁴⁾.

Para avaliação da influência da polaridade dos fitoconstituintes do extrato de *B. oleracea* var. *capitata*, o extrato hidroalcoólico ácido foi submetido à partição Líquido-Líquido onde obteve-se halos nas fases referentes ao acetato de etila (19mm), diclorometano (20mm) e na fração hidroalcoólica remanescente (21mm) (Figura 3).

Os solventes utilizados nesta pesquisa são capazes de extrair compostos antracênicos (diclorometanos), cumarinas e flavonóides (acetato de etila), furanocumarinas (hexano) e taninos e alcalóides (misturas hidroalcoólicas)⁽¹⁸⁾. Apesar de não ter sido confirmado a presença dos metabólitos em cada fração, em estudos realizados por Carvalho et al.⁽¹²⁾ foi verificada a presença destes metabólitos secundários em extratos de *Brassica oleracea* var. *capitata*.

Nos testes realizados com extratos hidroalcoólicos a 10% (m/v) com concentrações etanólicas crescentes 0 a 100% (v/v) por difusão em meio sólido, não foram observados halos em nenhuma das concentrações etanólicas analisadas. Já em meio LB líquido estes extratos proporcionou resultados promissores em diferentes concentrações alcoólicas (Tabela 2). A inibição significativa do crescimento foi verificada nas concentrações de 40 a 80%, sendo o crescimento inibido em mais de 50%, nos extratos de concentrações hidroalcoólicas de 50 e 70% das amostras incubadas por um período de 8 horas (Figura 4A).

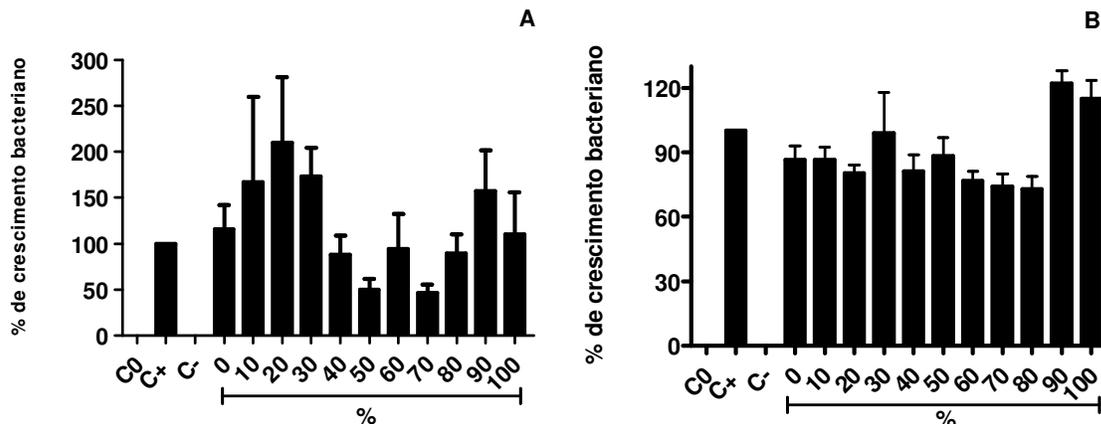


FIGURA 4. Influência do tempo em relação à atividade antibacteriana de extratos hidroalcoólicos (0 a 100% - v/v) de *Brassica oleracea* var. *capitata*. A e B - Crescimento bacteriano avaliado após 8h e 16h de incubação, respectivamente. CO – Somente LB (Luria-Bertani); (C+) – Controle positivo; (C-) – Controle negativo (gentamicina 4mg.mL⁻¹).

O tempo de permanência da placa na estufa foi avaliado, permanecendo uma segunda amostra incubada por um período de 16 horas nas mesmas condições (Figura 4B, Tabela 2). A escolha dos tempos levou em consideração a utilização convencional dos antibacterianos comerciais. Entretanto foram desconsiderações os aspectos farmacocinéticos de distribuição e metabolismo, uma vez que o experimento foi conduzido *in vitro*.

A avaliação permitiu verificar uma atividade bacteriostática em nove das onze amostras testadas, nas concentrações de 0 a 80% (v/v) frente ao crescimento bacteriano visto que não houve ausência de crescimento o que caracterizaria atividade bactericida. Os resultados mais expressivos foram observados nas concentrações hidroalcoólica de 70 e 80%, com uma inibição de 30 a 40% do crescimento bacteriano (Figura 4B).

Os resultados permitem inferir que há um aumento considerável na inibição do crescimento bacteriano da maioria dos extratos o que mostra que o tempo de incubação para a ação dos extratos é um fator que pode interferir significativamente em sua ação.

A avaliação da atividade frente a outras espécies de microrganismos contribuirá para uma melhor definição do perfil de atividade antimicrobiana *Brassica oleracea* var. *capitata* e de eventuais diferenças entre extratos obtidos a partir de diferentes formas de extração.

TABELA 2: Atividade antibacteriana de *Brassica oleracea* var. *capitata* frente *S. aureus* incubadas em meio líquido por 8h e 16h à 37°C.

Conc.	8 horas de incubação					16 horas de incubação					
	Abs	Média*	% Relativa	Abs	Média*	% Relativa	Abs	Média*	% Relativa		
C0	0	0,0	0,0	0	0	0	0	0	0	0	
C-	0,29	0,27	100,0	0,23 _{ABC}	0,6	0,73	0,66	0,66 _{AB}	100	100	
C+	0	0,0	0,0	0 _C	0	0	0	0 _D	0	0	
0%	0,35	0,18	121,7	0,28 _{ABC}	0,56	0,54	0,61	0,57 _{BC}	86,4	86,4	
10%	0,45	0,03	130,4	0,30 _{AB}	0,57	0,55	0,59	0,57 _{BC}	86,4	86,4	
20%	0,50	0,29	178,3	0,41 _A	0,5	0,53	0,56	0,53 _{BC}	80,3	80,3	
30%	0,53	0,31	165,2	0,38 _{AB}	0,82	0,55	0,56	0,64 _{ABC}	97,0	97,0	
40%	0,33	0,13	91,3	0,21 _{ABC}	0,56	0,49	0,55	0,53 _{BC}	80,3	80,3	
50%	0,11	0,09	43,5	0,10 _{BC}	0,53	0,53	0,68	0,58 _{BC}	87,9	87,9	
60%	0,16	0,15	69,6	0,16 _{ABC}	0,5	0,5	0,52	0,50 _{BC}	77,3	77,3	
70%	0,13	0,08	43,5	0,10 _{BC}	0,5	0,46	0,5	0,48 _C	74,2	74,2	
80%	0,21	0,17	78,3	0,18 _{ABC}	0,46	0,45	0,53	0,48 _C	72,7	72,7	
90%	0,33	0,29	134,8	0,31 _{AB}	0,75	0,84	0,77	0,79 _A	119,7	119,7	
100%	0,57	0,14	117,4	0,27 _{ABC}	0,76	0,72	0,79	0,76 _A	115,2	115,2	
Coeficiente de Variação						45,732	11,2				

Conc. – Concentração; Abs – Absorbância; C0 – Meio puro; (C+) – Controle positivo (gentamicina 4mg.mL⁻¹); (C-) – Controle negativo; % relativa – Porcentagem relativa. * – Letras iguais na mesma coluna demonstram que as médias não diferiram pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

CONCLUSÃO

A espécie *Brassica oleracea* var. *capitata* (Repolho Branco) é uma potencial fonte de agentes antibacterianos. Entretanto, a escolha do solvente, o método de extração e o meio de crescimento bacteriano devem ser considerados, uma vez que neste estudo foi verificada uma grande variação entre às variáveis avaliadas.

Os dados aqui evidenciados motiva posteriores estudos para o isolamento e identificação dos princípios ativos responsáveis pela atividade antibacteriana que podem ser usadas na indústria farmacêutica, visto o grande número de resistência às drogas antibacterianas já existentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Klein T, Longhini R, Bruschi ML et al. Fitoterápicos: um mercado promissor. *Revista Ciência Farmacêutica Básica Aplicada*, 2009, 30(3):241-248.
2. Barreto F, Sousa E, Campos A et al. Antibacterial Activity of *Lantana camara* Linn and *Lantana montevidensis* Brig Extracts from Cariri-Ceará, Brazil. *Journal of Young Pharmacists*, 2010, 2(1):42-44.
3. Höfling JF, Anibal PC, Obando-Pereda GA et al. Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida* species. *Brazilian Journal of Biology*, 2010, 70(4):1065-1068.
4. Ponzi EAC, Oliveira TL, Morais IAF et al. Antimicrobial activity of the *Momordica charantia* L. extract. *Revista de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-facial*, 2010, 10(1):89-94.
5. Lorenzi H, Matos FJ De A. *Plantas medicinais no Brasil/Nativas e exóticas*. 1.ed. Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2002:512.
6. Jain P, Bansal D, Bhasin P. Antibacterial activity of aqueous plant extracts against *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Drug Invention Today*, 2010, 2(4):220-222.
7. Costa JGM, Rodrigues FFG, Angélico EC et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente a larvas do *Aedes aegypti*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2005, 15(4):304-309.
8. Oliveira TG, Carvalho CA, Dal'piva GG et al. Chromatographic and spectrophotometric profiles of different phenologic stages of *Brassica oleracea* var. *capitata*. *Revista Eletrônica de Farmácia*, 2007, 4(2):142-152.
9. Monsalve C, Cano A. La Família Brassicaceae em la provincia de Huaylas, Áncash. *Revista Peruana de Biología*, 2003, 10(1):20-32.
10. Fracaro F, Sartori M, Bizzani E et al. Agronomic Behavior of Cabbage Cultivars and Hybrids in the Northeast Region of Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista de Ciência Rural*, 1999, 29(3):465-468.
11. Filgueira FAR. *Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. 3.ed. Viçosa, UFV, 2000:421.
12. Carvalho CA, Silva MB, Oliveira TG et al. Estudo espectrométrico de diferentes estágios fenológicos da *Brassica oleracea* var. *capitata*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2008, 18(2):249-257.
13. Sarandy MM. *Avaliação do efeito cicatrizante do extrato de repolho (Brassica oleraceae var. capitata) em ratos Wistar*. 2007. 57p. Dissertação para o Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Estrutural, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
14. Cheney G. Vitamin U therapy of pepticulcer. *California Medicine*, 1952, 77(4):248-252.

15. Ranocha P, Mcneil SD, Ziemak MJ et al. The S-methylmethionine cycle in angiosperms: ubiquity, antiquity and activity. *The Plant Journal*, 2001, 25(5):575–584.
16. Augspurger NR, Scherer CS, Garrow TA et al. Dietary S-Methyl methionine, a component of foods, has choline-sparing activity in chickens. *Journal of Nutrition*, 2005, 135, 1712–1717.
17. Carvalho CA, Fernandes KM, Matta SLP et al. Evaluation of antiulcerogenic activity of aqueous extract of *Brassica oleracea var. capitata* (cabbage) on Wistar rat gastric ulceration. *Experimental Gastroenterology*, 2011, 48(4), p. 276-288
18. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis, Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2004:1102.
19. Balbach A, Boarim D. *As Hortaliças na Medicina Natural*. 2.ed. Itaquacetuba, Vida Plena, 1993:280.
20. Gnoatto SCB, Bassani VL, Coelho GC et al. Influência do método de extração nos teores de metilxantinas em erva-mate (*Ilex paraguariensis* a. st.-Hil., aquifoliaceae). *Química Nova*, 2007, 30(2), 304-307.
21. Astill C, Birch MR, Dacombe C et al. Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black and Green tea infusions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001, 49(11), 5340-5347.
22. Silva IDD, Aragão CFS. Avaliação de parâmetros de extração da *Cinchona* Vahl por métodos farmacopéicos e não farmacopéicos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2009, 19(3), 776-780.
23. Longhini R, Raksa SM, Oliveira ACP et al. Obtenção de extratos de própolis sob diferentes condições e avaliação de sua atividade antifúngica. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2007, 17(3), 388-395.
24. Filho VC, Yunes RA. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. *Química Nova*, 1998, 21(1), 99-105.