

# Avaliação do efeito antibacteriano de extratos de folhas de batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) frente a bactérias de interesse em alimentos e correlação com os compostos fenólicos<sup>1</sup>

Antônio Elísio José<sup>2\*</sup>, Heloisa Helena Chaves Carvalho<sup>3</sup>, José Maria Wiest<sup>4</sup>

<http://dx.doi.org/10.1590/0034-737X201562050001>

## RESUMO

A batata-doce (*Ipomoea batatas* L.) é um vegetal muito cultivado nos países tropicais, usado na alimentação humana e na animal, sendo uma boa fonte de energia, sais minerais e vitaminas. Constitui, ainda, fonte de polifenóis antioxidativos, entre eles, antocianinas e ácidos fenólicos. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antibacteriana de diferentes extratos de folhas frescas de batata-doce, frente a bactérias de interesse alimentar, e correlacioná-la com os teores de polifenóis totais e de antocianinas. Foram avaliados teores de polifenóis totais e de antocianinas, bem como a atividade antibacteriana de extratos alcoólicos, de infusão e de decocção de folhas de dois acessos de batata-doce, em Porto Alegre, RS, frente a três agentes de interesse em alimentos e alimentação, quais sejam, inóculos padronizados de *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 11229). A avaliação da atividade antibacteriana, expressa em intensidade de atividade de inibição bacteriana (IINIB) e em intensidade de atividade de inativação bacteriana (IINAB), foi baseada em testes de diluição em sistema de tubos múltiplos; as antocianinas foram determinadas por meio de pH diferencial e os polifenóis pelo método de Folin & Ciocalteu. Os extratos alcoólicos inibiram e, ou, inativaram todos os inóculos testados, não obstante o *Staphylococcus aureus* ter sido significativamente mais resistente. Os extratos obtidos por decocção e infusão, além de apresentarem concentrações muito baixas de antocianinas e menores teores de polifenóis do que os seus correspondentes alcoólicos, não apresentaram atividade antibacteriana. A atividade antibacteriana dos extratos testados foi positivamente correlacionada com os compostos fenólicos e, ou, antocianinas.

**Palavras-chave:** polifenóis, antocianinas, atividade antibacteriana, inibição bacteriana, inativação bacteriana.

## ABSTRACT

### Antibacterial effect of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaf extracts against food bacteria and correlation with phenolic compounds

Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) is a widely grown crop in tropical countries as food and feed, and a good source of energy, minerals and vitamins. It is a source of antioxidative polyphenols such as anthocyanins and phenolic acids. In this study, the concentrations of polyphenols, anthocyanins, and the antibacterial activity of alcoholic extracts, infusion and decoction of leaves of two accessions of sweet potato were evaluated against three agents of interest in food, which are standardized inocula of *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Escherichia coli* (ATCC 11229), in Porto Alegre, RS. Evaluation of antibacterial activity, expressed

Submetido em 26/10/2013 e aprovado em 07/08/2015.

<sup>1</sup> Extraído da Dissertação de Mestrado do primeiro autor. Trabalho financiado pelo CNPq.

<sup>2</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Instituto Superior Politécnico de Gaza, Chòkwé, Gaza, Moçambique. aelisiojose@gmail.com

<sup>3</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. hhcarvalho@terra.com.br

<sup>4</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. jmwiest@ufrgs.br

\*Autor para correspondência: aelisiojose@gmail.com

as intensity of activity of bacterial inhibition (IINIB) and bacterial inactivation (IINAB), was based on tests of dilution in multiple tube system; anthocyanins were determined by differential pH and polyphenols by Folin & Ciocalteu. The alcoholic extracts inhibited and, or inactivated all inocula tested although *Staphylococcus aureus* were significantly more resistant. Decoction and infusion extracts, in addition to having very low concentrations of anthocyanins and lower polyphenol contents than their corresponding alcoholic extracts, showed no antibacterial activity. The antibacterial activity of the extracts tested was positively correlated to phenolic compounds and, or anthocyanins.

**Key words:** Polyphenols, anthocyanins, bacterial activity, inhibition, inactivation.

## INTRODUÇÃO

O consumo e a valorização de alimentos naturais, com substâncias que contribuem para a melhoria da saúde humana, têm ganhado crescente importância nos tempos atuais. Produzida em todo o Brasil, a batata-doce [*Ipomoea batatas* (L.) Lam] constitui um recurso natural renovável, com indicativo etnográfico medicinal, que pode diminuir a pressão sobre as substâncias de síntese química com interesse na alimentação e saúde. Considerada boa fonte de energia, sais minerais e vitaminas A, B e C, muitas partes desta planta são comestíveis, incluindo folhas, existindo variedades com uma ampla gama de cor da casca e da polpa da raiz, variando do branco até o amarelo-alaranjado e o roxo intenso, destacando-se, entre elas, as de polpa alaranjada, que podem desempenhar um papel fundamental no alívio da deficiência de vitamina A, comum entre crianças na Ásia e na África subsaariana (Dombroski *et al.*, 2010).

Islam (2006) reporta que as folhas de batata-doce são excelentes fontes de polifenóis antioxidativos, entre eles as antocianinas e os ácidos fenólicos, como o cafeico, o monocateoilquínico (ácido clorogênico), o dicafeoilquínico e ácidos de tricafeoilquínico superiores ao de outras hortaliças. Além de propriedades antioxidantes (Vargas *et al.*, 2008), os polifenóis apresentam várias outras ações biológicas específicas, ainda pouco compreendidas (Manach *et al.*, 2004). Os polifenóis formam grupos heterogêneos, que se dividem em dois subgrupos: os flavonoides e os não flavonoides, sendo ambos compostos de baixo peso molecular, denominados metabólitos secundários, presentes em frutas e vegetais. Os flavonoides englobam uma classe muito importante de pigmentos naturais e têm a estrutura química  $C_6-C_3-C_6$ , sendo que as duas partes da molécula com seis carbonos são anéis aromáticos. Suas propriedades biológicas estão relacionadas com a atividade antioxidante que cada fenol exerce sobre determinado meio (Volp *et al.*, 2008). Os flavonoides são amplamente distribuídos na natureza, embora não uniformemente. Portanto, grupos específicos de alimentos muitas vezes constituem fontes ri-

cas de uma ou mais subclasses desses polifenóis (Beecher, 2003). A análise fitoquímica de folhas de batata-doce de polpa do tipo “amarelo”, especialmente aquele de polpa cor de abóbora revelou, além do amido, quantidades de flavonoides livres e glicosídeos de renol e borneol e triterpenoides especiais (Matos & Lorenzi, 2002).

Este trabalho objetivou avaliar a atividade antibacteriana de diferentes extratos de folhas frescas de batata-doce, frente a bactérias de interesse alimentar, e correlacioná-la com os teores de polifenóis totais e de antocianinas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Extratos*

Folhas frescas de dois acessos de batata-doce, um de polpa branca (BDB) e outro de polpa amarela (BDA), foram colhidas em Porto Alegre, RS, numa propriedade agroecológica familiar, para análises no princípio de droga vegetal. A BDB caracterizou-se por apresentar folhas com nervuras de cor roxa e pecíolo longo e verde, enquanto a BDA apresentava folhas com nervuras de cor roxa e pecíolo muito longo, igualmente de cor roxa.

As folhas foram submetidas aos processos de extração alcoólica (alcoholatura), infusão, decocção simples e decocção sob autoclave, para obtenção das soluções antibacterianas, segundo Matos & Lorenzi (2002), Souza & Wiest (2007), Avancini & Wiest (2008) e Brasil (2010). Para a alcoholatura, amostras de folhas recém-colhidas foram trituradas finamente e colocadas em álcool etílico de cereais, a 96°GL (Farmaquímica, Porto Alegre/RS/BR), na proporção de 400 g de matéria fresca (MF) para 1000 mL. Após 60 dias de maceração com agitação regular, a mistura foi filtrada e submetida à destilação fracionada sob pressão reduzida, em sistema de Rotavapor, para eliminação da fase alcoólica. A infusão e a decocção foram feitas também na mesma proporção, sendo que a infusão consistiu na imersão imediata de folhas em água destilada estéril, recém-ebulida, deixando-as em extração por um período de 15 minutos. O decocto simples foi preparado, mantendo-se a fervura

das folhas, durante 15 minutos, em água destilada estéril, enquanto, para o decocto sob autoclave, mantiveram-se as folhas em água destilada estéril e em autoclave, a 1 atm de pressão, por 15 minutos. A concentração dos extratos aquosos (infusão e decocto), nas condições deste experimento, foi de 40% (m/v) e, a dos alcoólicos, 60% (m/v), uma vez que a fase alcoólica foi separada, reduzindo-se o volume final. Os extratos foram padronizados como extratos totais (ET), a partir dos quais foram preparadas as respectivas diluições de trabalho, que corresponderam aos ET de 25, 50 e 75%, diluídos com água destilada estéril (E25, E50 e E75).

### **Polifenóis e antocianinas**

Os polifenóis foram extraídos com a metodologia de Vinson *et al.* (2001), segundo a qual amostras de 100 µL de extrato foram acrescidas de 500 µL de solução de extração com metanol a 50% e ácido clorídrico a 1.2 M e colocadas em banho-maria, a 90 °C, por três horas, sendo posteriormente resfriadas até temperatura ambiente e centrifugadas a 5000 rpm, por cinco minutos, para obtenção de sobrenadantes que constituíram os extratos de polifenóis.

O teor de polifenóis totais foi determinado pelo método de Folin & Ciocalteu, no qual, baseando-se em Moyer *et al.* (2002), 60 µL de cada um dos extratos de polifenóis foram postos a reagir com 150 µL de Folin, 150 µL de carbonato de sódio e 840 µL de água destilada, por 30 minutos, sendo a absorbância lida a 750 nm no espectrofotômetro. O teor de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração, construída com padrões de ácido gálico (10 a 150 µg/mL) e expressos como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de extrato (Bora *et al.*, 2005).

As antocianinas foram determinadas pelo método de pH diferencial, conforme descrito por Giusti & Wrolstad (2001); 200 µL do extrato foram diluídos em 1800 µL de solução tampão correspondente: cloreto de potássio 0,025 M, pH 1 e acetato de potássio 0,4 M, pH 4,5. Após 15 minutos de repouso, sob temperatura ambiente (25 ± 2 °C), foram feitas as medições de absorbância, a 540 nm e 700 nm, em espectrofotômetro, em cubetas de 1 cm de largura. O teor dos pigmentos foi calculado, considerando-se a absorvidade molar (ε) de 26900 L/(cm<sup>2</sup> mol), o peso molecular de 449,2 g/mol da cianidina 3-glicosídeo. Os resultados foram expressos como miligramas (mg) de cianidina 3-glicosídeo 100/g, de acordo com a fórmula seguinte:

$$\text{Antocianinas} = \frac{A * PM * FD * 1000}{E * l}$$

(Lima *et al.*, 2007, Teixeira *et al.*, 2008),

em que: A (absorbância) = (A<sub>540</sub> - A<sub>700</sub>) pH 1,0 - (A<sub>540</sub> - A<sub>700</sub>) pH 4,5; PM = peso molecular; FD = fator de diluição; E = absorvidade molar; l = caminho óptico da cubeta (1 cm).

### **Atividade antibacteriana**

Amostras de inóculos, padrões American Type Culture Collection (ATCC): *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 11229), todas provenientes da coleção da bacterioteca do Laboratório de Higiene do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, foram reativadas em meio de cultura Brain Heart Infusion (BHI - Oxoid®), a 37 °C, por 24 horas de incubação aeróbia, com vistas a atingir uma concentração ≥ 1,0 x 10<sup>8</sup> unidades formadoras de colônia (UFC) /mL, por meio de diluições seriadas logarítmicas, em água peptonada (Avancini & Wiest, 2008). A avaliação da IINIB/bacteriostasia e da IINAB/bactericidia dos extratos alcoólicos de folhas do acesso branco (FBDB) e do acesso amarelo (FBDA), infusão de folhas do acesso branco (INFB) e do acesso amarelo (INFA), decocto simples de folhas do acesso branco (DECb) e do acesso amarelo (DECA) e o decocto sob autoclave de folhas dos acessos branco (DECbA) e amarelo (DECAa) centrou-se na técnica do sistema de tubos múltiplos, descrita por Avancini & Wiest (2008), confrontando-se, por 24, 48, 72 e 144 horas, 4,5 mL de extrato com 1,0 mL de cada uma das oito diluições seriadas das diferentes amostras bacterianas inoculadas asépticamente em 4,5 mL do meio de crescimento (caldo BHI, Brain Heart Infusion Broth), para se obterem os valores de IINIB, bem como em 4,5 mL do mesmo meio com desestressores (lecitina (0,6%), Tween 80 (6%) e histidina (0,2%)) para se determinarem os valores de IINAB. Os resultados do confronto foram verificados por meio do crescimento, ou não, de colônias bacterianas, após o plaqueamento em ágar BHI (Brain Heart Infusion Agar), e representados por variáveis ordinais arbitrárias, que assumiram valores de 1 a 9, em que 9 representa atividade máxima dos extratos e, 1, ausência de atividade (n.a), conforme a Tabela 1.

### **Correlação entre o teor de polifenóis e a atividade antibacteriana**

A relação entre os teores de polifenóis totais e, ou, antocianinas dos extratos e a atividade antibacteriana foi determinada por avaliação do coeficiente de correlação de Pearson, tomando-se valores de polifenóis e, ou, antocianinas de extratos totais e de extratos diluídos em água destilada estéril como variáveis independentes e avaliando-se as respectivas IINIB e, ou IINAB, definidas como variáveis dependentes, para estabelecer a relação.

### Análise estatística

Os resultados obtidos em três repetições foram avaliados por meio de análise de variância (ANOVA) e, as médias com efeitos significativos, comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância, utilizando-se o programa SAS 9.3 (Floriano *et al.*, 2007; SAS Institute Inc., 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Teor de polifenóis e antocianinas

Os conteúdos médios (mg/100g de MF) de polifenóis totais nas folhas dos dois acessos de batata-doce foram diferentes (Figura 1) conforme o método de extração, sendo que, nos extratos alcoólicos, os valores observados foram maiores que os obtidos com emprego da água e calor. Essas diferenças podem ser o resultado da solubilidade diferenciada das substâncias e, ou, princípios ativos nos solventes utilizados. O decocto sob autoclave de folhas teve conteúdos de polifenóis mais elevados que aqueles obtidos por decocto simples, independen-

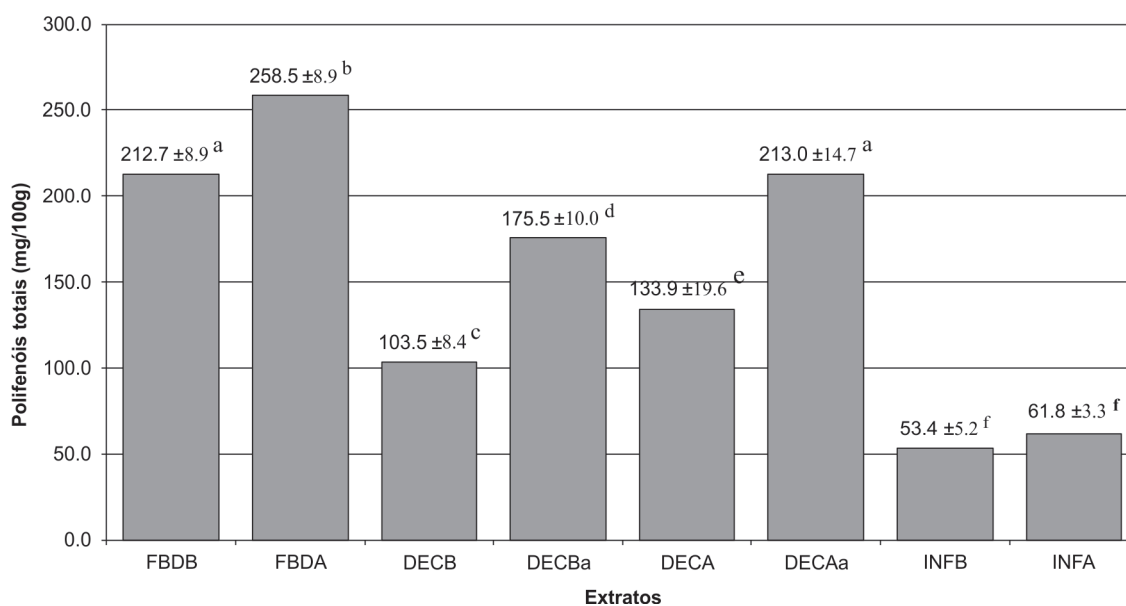
temente do acesso, provavelmente porque o efeito combinado do calor e da pressão na autoclave teria facilitado a liberação de mais ativos do que no decocto simples. Manach *et al.* (2004) indicam que os métodos de preparação e de culinária também têm um efeito marcante sobre o teor de polifenóis dos alimentos, pois, em seu trabalho houve significativa redução do escore durante o cozimento, o que concorda com os resultados encontrados neste trabalho.

Ishiguro *et al.* (2007) encontraram, usando o mesmo método, teores médios de polifenóis totais, em quatro variedades de batata-doce, que variavam entre 2, 3 e 31,2 mg/g do peso seco. Em análise e caracterização de teores de polifenóis totais de folhas de batata-doce, de genótipos coletados no mundo inteiro, Islam (2006) reporta uma concentração de  $6,19 \pm 0,14$  g/100 g de peso seco, admitindo-se que o teor de umidade da folha de batata-doce varia e aproxima-se dos resultados obtidos neste trabalho. Pela análise de variância e o teste de Tukey, a 5%, o teor de polifenóis da maioria dos extratos diferiu significativamente entre si, sendo que as infusões

**Tabela 1:** Valores ordinários arbitrários de intensidade de atividade correspondentes às variáveis intensidade da atividade de inibição bacteriana ou bacteriostasia e intensidade de atividade de inativação bacteriana ou bactericida e suas respectivas diluições e doses infectantes dos inóculos

Variáveis ordinárias de intensidade de atividade	1	2	3	4	5	6	7	8	9
UFC/mL – diluições de inóculo inibidas ou inativadas	n.a	$10^{-8}$	$10^{-7}$	$10^{-6}$	$10^{-5}$	$10^{-4}$	$10^{-3}$	$10^{-2}$	$10^{-1}$
UFC/mL – doses infectantes inibidas ou inativadas	n.a	1	$10^1$	$10^2$	$10^3$	$10^4$	$10^5$	$10^6$	$10^7$

n.a - ausência de atividade antibacteriana



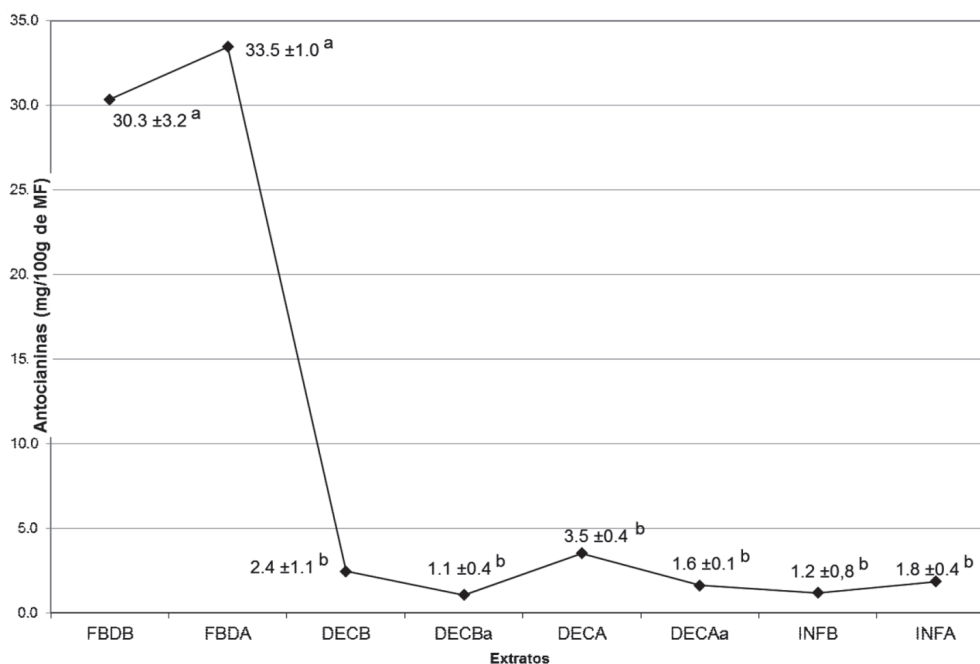
**Figura 1:** Teores de polifenóis (mg/100g MF) de diferentes extratos de dois acessos de batata-doce independentemente da forma de obtenção. FBDB (extrato alcoólico de folha de batata-doce acesso branco), FBDA (extrato alcoólico de folha de batata-doce acesso amarelo), DECB (decocto simples da folha de batata-doce acesso branco), DECBa (decocto sob autoclave da folha de batata-doce acesso branco), DECA (decocto simples da folha de batata-doce acesso amarelo), DECAa (decocto sob autoclave da folha de batata-doce acesso amarelo), INFB (infusão da folha de batata-doce acesso branco), INFA (infusão da folha de batata-doce acesso amarelo).

(INFB e INFA) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ). Os extratos diluídos (E25, E50 e E75) apresentaram menores teores de polifenóis totais, em comparação com os dos extratos totais (ET) indicados na Figura 1, tendo-se obtido, em FBDB (folha de batata-doce branca),  $184,3 \pm 9,0$ ;  $143,2 \pm 9,4$ ; e  $124,7 \pm 6,4$  mg/100g de MF, respectivamente, e, em FBDA (folha de batata-doce amarela),  $234,2 \pm 4,8$  mg/100g de MF, para E25;  $194,7 \pm 7,3$ , para E50; e  $176,9 \pm 3,9$ , para E75. Isto pode significar que a adição de água interfere na molécula, resultando em redução dos teores de polifenóis nas diluições.

Manach *et al.* (2004) referem que os polifenóis são altamente solúveis em água e que quanto mais cor púrpura apresentar o vegetal, mais teores de polifenóis podem ser encontrados, o que, até certo ponto, vem ao encontro dos resultados deste trabalho, já que a folha da batata-doce amarela apresentava o pecíolo e nervuras da folha repletos de cor púrpura, ao contrário das estruturas da folha da batata-doce branca.

Na Figura 2, são indicados os conteúdos de antocianinas dos extratos examinados, em que os extratos alcoólicos (FBDA e FBDB) apresentaram valores mais altos, enquanto os demais, obtidos com o emprego do calor, quais sejam, decoção e infusão, mostraram teores mais baixos. Comparando-se as duas folhas, observou-se que, independentemente do tipo de extração, as folhas do acesso batata-doce amarela apresentavam con-

centrações antociânicas relativamente maiores que as do acesso batata-doce branca. Os resultados mostraram, ainda, um acentuado decréscimo de conteúdos de antocianinas em extratos obtidos termicamente, o que pode evidenciar a sensibilidade desses pigmentos a temperaturas elevadas. Antia *et al.* (2006), em seu trabalho sobre a avaliação nutritiva e antinutritiva de folhas de batata-doce, encontraram  $30,24 \pm 0,02$  mg/100 g da concentração de cianidina, que, segundo Islam (2006), é uma substância que caracteriza as antocianinas presentes em batata-doce. Um dado não menos importante estaria relacionado com o fato de a decoção ter mostrado considerável teor de polifenóis e, em contrapartida, teores muito baixos de antocianinas, o que provavelmente pode estar relacionado com a maior sensibilidade das antocianinas ao calor, em comparação com outros fenólicos, ou, ainda, que elas se desnaturam quando expostas a temperaturas elevadas. Lopes *et al.* (2007) também afirmam que a temperatura é outro fator importante na estabilidade das antocianinas, porque, à medida que se submete a solução de antocianinas a uma temperatura superior à ambiente ( $25^\circ\text{C}$ ), a sua degradação é maior, mesmo quando complexadas com ácido tânico. Malacrida & da Motta (2005) indicam que o uso de altas temperaturas durante a extração, pasteurização e estocagem pode acarretar perdas na quantidade de compostos fenólicos, principalmente, por causa da degradação de antocianinas.



**Figura 2:** Teores de antocianinas (mg/100g de MF) de diferentes extratos de dois acessos de batata-doce, de acordo com a sua forma de obtenção. FBDB (extrato alcoólico de folha de batata-doce acesso branco), FBDA (extrato alcoólico de folha de batata-doce acesso amarelo), DECB (Decocto da folha de batata-doce acesso branco), DECAa (Decocto autoclavado da folha de batata-doce acesso amarelo), INFB (Infusão da folha de batata-doce acesso branco), INFA (Infusão da folha de batata-doce acesso amarelo), DECA (Decocto da folha de batata-doce acesso amarelo), DECBa (Decocto autoclavado da folha de batata-doce acesso branco).

A 5% de significância, não foram encontradas diferenças estatísticas entre os teores de antocianinas, nos extratos obtidos pela decocção simples, decocção sob autoclave e infusão de folhas de ambos os acessos e, analogamente, também não houve diferença entre os extratos alcoólicos, mas, sim, entre a extração por álcool e a extração por água ( $p < 0,05$ ).

### Atividade antibacteriana

Os extratos alcoólicos das folhas dos dois acessos (batata-doce branca e batata-doce amarela) apresentaram atividade antibacteriana, ainda que o tempo de exposição fosse diferente, consoante o tipo de micro-organismo confrontado. Por outro lado, os extratos obtidos com base no calor não evidenciaram atividade alguma. Assim, de acordo com os resultados apresentados na Tabela 2, enquanto a IINIB e IINAB de extratos obtidos por meio da alcoolatura assumiram valores máximos (9), para todos os inóculos confrontados, aqueles

preparados por meio de infusão, decocção simples e decocção sob autoclave apresentaram valores mínimos (1), sugerindo que a atividade antibacteriana foi praticamente inexistente, provavelmente, por efeito do calor usado na preparação, que pode ter levado à degradação das substâncias ativas e, ou essenciais, relacionadas com a atividade antimicrobiana, conforme referido anteriormente. Souza & Wiest (2007), Girolometto *et al.* (2009) e Passos *et al.* (2009) também encontraram em seus trabalhos com outras plantas, utilizando os mesmos métodos de extração, valores de intensidade de atividade antibacteriana mais altos nos extratos alcoólicos do que no decocto e na infusão.

Em 24 horas de confronto, o extrato alcoólico de folhas de batata-doce branca inibiu (IINIB = 9) o crescimento de *Staphylococcus aureus* sem, contudo, inativá-lo (IINAB < 9). Isto significa que o extrato impediu a multiplicação de  $10^7$  UFC/g e conseguiu destruir até  $10^5$  UFC/g. Com 48 horas de exposição, esse

**Tabela 2:** Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana ou bacteriostasia (IINIB) e Intensidade da Atividade de Inativação Bacteriana ou bactericidia (IINAB) de extratos de folha de dois acessos de batata-doce, em diferentes tempos de exposição e em três repetições

Inóculo bacteriano	Extrato	Tempo de exposição (horas)								
		24		48		72		144		
		IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	IINIB	IINAB	
<i>Salmonella</i> <i>Enteritidis</i>	FBDB	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9
	FBDA	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9
	INFB	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	INFA	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	DECB	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	DECBa	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	DECAa	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	DECA	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
<i>Escherichia</i> <i>coli</i>	FBDB	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9
	FBDA	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9
	INFB	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	INFA	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	DECB	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	DECBa	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	DECAa	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	DECA	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	FBDB	9; 9; 9	6; 8; 7	9; 9; 9	9; 9; 8	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9
	FBDA	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9
	INFB	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	INFA	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	DECB	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	DECBa	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	DECAa	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	DECA	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1

1 (inexistência de atividade antibacteriana) 9 (atividade antibacteriana máxima).

Extrato - FBDB (extrato alcoólico de folhas de batata-doce acesso branco), FBDA (extrato alcoólico de folhas de batata-doce acesso amarelo), DECB (decocto simples da folha de batata-doce acesso branco), DECBa (decocto sob autoclave da folha de batata-doce acesso branco), DECA (decocto simples da folha de batata-doce acesso amarelo), DECAa (decocto sob autoclave da folha de batata-doce acesso amarelo), INFB (infusão da folha de batata-doce acesso branco), INFA (infusão da folha de batata-doce acesso amarelo).

extrato apresentou efeito bactericida máximo (IINAB = 9) sobre o mesmo micro-organismo, cujos inóculos, ao contrário dos das demais bactérias testadas neste experimento, mostraram-se mais resistentes, na mesma situação de confronto. As bactérias *Salmonella Enteritidis* e *Escherichia coli* (Gram-negativas) foram mais sensíveis, inclusive nos extratos mais diluídos, seja em relação ao tempo de exposição, seja ao efeito do próprio extrato (Tabela 3). Tavares (2000) destaca o *Staphylococcus* dentre os micro-organismos que sofreram grandes modificações na sensibilidade aos antimicrobianos, com o decorrer dos anos, o que justifica até certo ponto a sua resistência.

Embora autores como Carvalho *et al.* (2005), Souza & Wiest (2007), Passos *et al.* (2009) e Girolometto *et al.* (2009) reportem diferenças significativas entre os valores de IINIB e IINAB, em seus trabalhos, neste estudo, essas diferenças não foram observadas ( $p > 0,05$ ), o que pode estar relacionado com a diferença de poder de ação dos extratos sobre as bactérias avaliadas. A atividade antibacteriana em extratos diluídos apresentou diferenças significativas (Tabela 4).

Alinhando-se com os resultados deste estudo, Lima *et al.* (2009), no seu trabalho de perfil de sensibilidade, confirmaram a maior sensibilidade dos gêneros de *Salmonella*, perante as substâncias antimicrobianas testadas. Carvalho *et al.* (2005), Avancini & Wiest (2008) e Wiest *et al.* (2009), em seus estudos de triagem de atividade antimicrobiana, encontraram, igualmente, maior sensibilidade de *Salmonella* Enteritidis e maior resis-

**Tabela 4:** Avaliação da intensidade de atividade de inibição e, ou, inativação bacteriana (IINIB, IINAB), em extratos alcoólicos de folha de batata-doce do acesso branco (FBDB) e acesso amarelo (FBDA)

Extrato	FBDB		FBDA	
	Média		Extrato	Média
ET	9,0 <sup>a</sup>		ET	9,0 <sup>a</sup>
E25	6,5 <sup>b</sup>		E25	8,0 <sup>a</sup>
E50	4,0 <sup>c</sup>		E50	5,0 <sup>b</sup>
E75	1,0 <sup>d</sup>		E75	1,0 <sup>c</sup>

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças e letras iguais indicam que não existem diferenças estatisticamente significativas. Extrato - ET é o extrato total; E25, extrato 25% diluído; E50, extrato 50% diluído e E75, extrato 75% diluído.

**Tabela 3:** Intensidade da Atividade de Inibição Bacteriana ou bacteriostasia (IINIB) e de Inativação Bacteriana ou bactericida (IINAB) de extratos alcoólicos diluídos, de folhas de dois acessos de batata-doce, em diferentes tempos de exposição

Extrato	Tempo de exposição (horas)		<i>Salmonella Enteritidis</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
			FBDB	FBDA	FBDB	FBDA	FBDB	FBDA
E25	24	IINIB	9; 9; 9	9; 9; 9	8; 7; 8	9; 9; 9	4; 3; 4	9; 9; 9
		IINAB	9; 9; 9	9; 9; 9	7; 7; 8	9; 9; 9	3; 3; 2	3; 3; 2
	48	IINIB	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	5; 5; 4	9; 9; 9
		IINAB	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	4; 4; 4	3; 3; 3
	72	IINIB	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	6; 5; 6	9; 9; 9
		IINAB	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	5; 5; 4	4; 4; 3
144	IINIB	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	7; 6; 7	9; 9; 9	
	IINAB	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	9; 9; 9	6; 6; 5	7; 6; 7	
E50	24	IINIB	5; 5; 5	9; 9; 9	5; 5; 5	7; 8; 7	1; 1; 1	3; 3; 4
		IINAB	5; 5; 5	9; 9; 9	5; 5; 5	6; 6; 5	1; 1; 1	3; 3; 3
	48	IINIB	7; 6; 7	9; 9; 9	7; 7; 8	8; 7; 8	1; 1; 1	4; 4; 4
		IINAB	6; 6; 6	9; 9; 9	7; 7; 7	7; 6; 7	1; 1; 1	3; 4; 4
	72	IINIB	8; 7; 8	9; 9; 9	8; 8; 8	9; 8; 9	1; 1; 1	4; 4; 4
		IINAB	7; 7; 6	9; 9; 9	7; 7; 7	9; 8; 8	1; 1; 1	4; 3; 4
144	IINIB	8; 8; 8	9; 9; 9	9; 9; 8	9; 9; 9	1; 1; 1	5; 5; 5	
	IINAB	7; 6; 7	9; 9; 9	8; 8; 7	9; 9; 9	1; 1; 1	5; 5; 4	
E75	24	IINIB	1; 1; 1	3; 2; 3	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
		IINAB	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	48	IINIB	1; 1; 1	6; 5; 4	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
		IINAB	1; 1; 1	3; 2; 3	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
	72	IINIB	1; 1; 1	6; 6; 7	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
		IINAB	1; 1; 1	3; 3; 3	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1
144	IINIB	1; 1; 1	9; 9; 9	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	
	IINAB	1; 1; 1	5; 4; 5	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	1; 1; 1	

1 - inexistência de atividade antibacteriana, 9 - atividade antibacteriana máxima. Extrato - E25, extrato 25% diluído em água destilada estéril; E50, extrato 50% diluído em água destilada estéril e E75, extrato 75% diluído em água destilada estéril.

tência de *Staphylococcus aureus*, quando expostos aos extratos de seus experimentos.

Mesmo confirmando esta tendência de que o *Staphylococcus aureus* é uma bactéria resistente, os extratos alcoólicos das folhas dos dois acessos de batata-doce obtiveram escores bem melhores, em relação à atividade antiestafilocócica (valores arbitrários entre 9 e 6) do que as plantas testadas pelos autores já mencionados.

Islam (2008), testando a atividade antibacteriana de folhas liofilizadas de diferentes cultivares de batata-doce, verificou que os extratos aquosos a frio deste material suprimiam o crescimento de outras bactérias de intoxicação alimentar, como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* e *E. coli* patogênica. Isto pode significar que, diferentemente dos extratos obtidos com o uso do calor, neste trabalho, os extratos que não passaram pelo processo térmico têm ação sobre os micróbios, provavelmente, porque os compostos antimicrobianos não se desnaturaram durante o processo de extração.

#### **Correlação entre o teor de polifenóis, antocianinas e a atividade antibacteriana**

O coeficiente de correlação linear de Pearson (r) foi de 0,945, entre a IINIB e, ou, IINAB e o teor de polifenóis, bem como de 0,962, em relação às antocianinas, sugerindo, portanto, uma correlação linear fortemente positiva entre os teores de polifenóis e, ou, antocianinas e a intensidade de atividade antibacteriana. Filho & Junior (2009) referem que, quanto mais próximo de 1 o coeficiente de correlação linear, mais forte é a relação entre as variáveis. Falcão *et al.* (2007), avaliando a atividade antioxidante em uvas, observaram uma relação positiva entre os resultados da atividade antioxidante e os índices de polifenóis totais e de antocianinas, sendo o coeficiente de correlação destas ligeiramente inferior, o que se assemelha às constatações deste trabalho.

## **CONCLUSÕES**

Nas condições dos experimentos foram encontrados maiores teores de polifenóis totais e de antocianinas nos extratos alcoólicos do que nos extratos aquosos das folhas dos dois acessos de batata-doce, sendo que o calor da infusão e da decocção poderia ter degradado as substâncias ativas que tomam parte no processo. Os acessos de batata-doce estudados constituem-se em hortaliças cujos extratos alcoólicos inibem e, ou, inativam bactérias como *Salmonella* Enteritidis (ATCC 11076), *Escherichia coli* (ATCC 11229) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), não obstante esta última ser significativamente mais resistente, enquanto extratos obtidos por decocção e infusão não mostraram atividade antibacteriana. A intensidade de atividade de inibição e, ou, inativação está positivamente correlacionada com as

concentrações de compostos fenólicos e de antocianinas, sendo que estes, provavelmente, são responsáveis por este indicativo da atividade antibacteriana dos extratos testados.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq e ao Ministério da Ciência e Tecnologia de Moçambique (MCT).

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Antia BS, Akpan EJ, Okon PA & Umoren IU (2006) Nutritive and anti-nutritive evaluation of sweet potatoes (*Ipomoea batatas*) leaves. *Pakistan Journal of Nutrition*, 5:166-168.
- Avancini CAM & Wiest JM (2008) Atividade desifetante do decocto de *Hypericum caprifoliatum* Cham. e Schlecht. – Guttiferae (escadinha, sinapismo) frente a diferentes doses infectantes de *Staphylococcus aureus* (agente infeccioso em mastite bovina). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 10:64-69.
- Beecher GR (2003) Overview of dietary flavonoids: Nomenclature, occurrence and intake. *Journal for Nutrition*, 133:3248-3254.
- Bora K, Miguel OG, Andrade CA & Oliveira AOT (2005) Determinação da concentração de polifenóis e do potencial antioxidante das diferentes frações do extrato de folhas de *Dicksonia sellowiana*, (presl.) hook, aliaceae. *Visão Acadêmica*, 6:06-15.
- Brasil (2010) Farmacopeia Brasileira 5ª ed. Brasília, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 546p.
- Carvalho HHC, Cruz FT & Wiest JM (2005) Atividade antibacteriana em plantas com indicativo etnográfico condimentar em porto alegre, RS/ Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 7:25-32.
- Dombroski JLD, Câmara FA, Neto FB, Oliveira MKT & Freitas RMO (2010) Indução de Calos em três variedades de Batata-doce. *Revista Verde*, 5:129-133.
- Falcão AP, Chaves ES, Kuskoski EM, Fett R, Falcão LD & Bordignon-Luiz MT (2007) Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geléia de uvas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 27:637-642.
- Filho DBF & Júnior JAS (2009) Desvendando os mistérios do coeficiente de correlação de Pearson (r). *Revista Política Hoje*, 18:115-146.
- Floriano EP, Müller I, Schneider PR & Lopes LFD (2007) SAS o essencial da linguagem. 2ª ed. Santa Maria, UFSM. 211p.
- Girolometto G, Avancini CAM, Carvalho HHC & Wiest JM (2009) Atividade antibacteriana de extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 11:49-55.
- Giusti MM & Wrolstad R (2001) Characterization and measurement of anthocyanins by uv-visible spectroscopy. *John Wiley & Sons*, 1.2:1-13.
- Ishiguro K, Yahara S & Yoshimoto M (2007) Changes in Polyphenolic Content and Radical-Scavenging Activity of Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) during storage at optimal and low temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55: 10773-10778.
- Islam S (2008) Antimicrobial activities of *Ipomoea batatas* (L.) leaf. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 6:14-17.
- Islam S (2006) Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) leaf: its potential effect on human health and nutrition. *Journal of Food Science*, 71:13-21.
- Lima ET, Filho RLA, Marietto-Gonçalves GA, Rocha TS, Menconi A & Okamoto AS (2009) Perfil de sensibilidade de salmonella entérica sorovar Enteritidis isolada de aves frente a drogas e substâncias antimicrobianas produzidas por *Lactobacillus reuteri* e *Lactobacillus salivarius*. *Veterinária e Zootecnia*, 16:180-189.



- Lima VLAG, Mélo EA & Guerra NB (2007) Correlação entre o teor de antocianinas e caracterização cromática de polpas de diferentes genótipos de aceroleira. *Brazilian Journal of Food Technology*, 10:51-55.
- Lopes TJ, Xavier MF, Quadri MGN & Quadri MB (2007) Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. *Revista Brasileira de Agrociência*, 13:291-297.
- Malacrida CR & Motta S (2005) Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. *Ciência tecnologia alimentos*, 25:659-664.
- Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C & Jiménez L (2004) Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79:727-747.
- Matos FJA & Lorenzi H (2002) Plantas medicinais no Brasil, nativas e exóticas. Nova Odessa, Instituto Plantarum de Estudos da Flora LTDA. 512p.
- Moyer RA, Hummer KE, Finn CE, Frei B & Wrolstad RE (2002) Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: vaccinium, rubus, and ribes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50:519-525.
- Passos MG, Carvalho H & Wiest JM (2009) Inibição e inativação *in vitro* de diferentes métodos de extração de *Ocimum gratissimum* L. ("alfavacão", "alfavaca", "alfavaca-cravo") Labiatae (Lamiaceae), frente a bactérias de interesse em alimentos. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*, 11:71-78.
- SAS Institute Inc. (2011) SAS/STAT® 9.3 User's Guide. Cary, NC. SAS Institute Inc. Disponível em: <<http://support.sas.com>>. Acessado em: 03 de maio de 2013.
- Souza AA & Wiest JM (2007) Atividade natibacteriana de *Aloysia gratissima* (Gill et Hook) tronç, (garupá, erva-santa) usada na medicina tradicional do Rio Grande do Sul – brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 9:23-29.
- Tavares W (2000) Bactérias gram-positivas problemas: resistência do estafilococo, do enterococo e do pneumococo aos antimicrobianos. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 33:281-301.
- Teixeira LN, Stringheta PC & Oliveira FA (2008) Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. *Revista Ceres*, 55:297-304.
- Vargas PN, Hoelzel SC & Rosa CS (2008) Determinação do teor de polifenóis totais e atividade antioxidante em sucos de uva comerciais. *Alimentos e Nutrição*, 19:11-15.
- Vinson JA, Zubik L & Bose P (2001) Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49:5315-5321.
- Volp ACP, Renhe IRT, Barra K & Stringueta PC (2008) Flavonóides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, 23:141-149.
- Wiest JM, Carvalho HHC, Avancini CAM & Gonçalves AR (2009) Inibição e inativação de *Salmonella spp* por extratos de plantas com indicativo etnográfico medicinal ou condimentar. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61:119-127.