



USO DO SISTEMA DE INJEÇÃO EM FLUXO CONTÍNUO PARA ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DA FOLHA DE *CYPERUS ROTUNDUS*

Geovanna Kelly Chagas¹ (IC)*, Bianca de Souza Campos¹ (IC), Jonas Alves Vieira¹ (PQ)

*kellychagasgeovanna.33@gmail.com

1-Universidade Estadual de Goiás - Campus Anápolis de Ciências Exatas e Tecnológicas - Henrique Santillo, BR 153, n. 3105, Fazenda Barreiro do Meio, Anápolis - GO. 75.132-903. Tel: (62) 3328.1160. Fax (62)3328.1177.

Resumo: O sistema por injeção em fluxo consiste na utilização de aparelhagem simples para automatizar a manipulação de soluções, fornecendo resultados em até 50 segundos. As técnicas empregando sistemas em fluxo podem propiciar grandes contribuições no monitoramento da atividade biológica das plantas, em razão da sua diversificação, tanto com relação às configurações estruturais dos sistemas, como na automação das análises químicas. *Cyperus rotundus*, conhecida popularmente no Brasil como tiririca, é utilizada na medicina popular no tratamento de diversas doenças devido ao potencial anti-inflamatório, anti-histamínico, antioxidante e antimicrobiano. Assim, o objetivo desse trabalho é o emprego do sistema em fluxo para avaliação da atividade antimicrobiana do extrato bruto da folha de *Cyperus rotundus*, usando *Escherichia coli* inoculada em meio de cultura e dopada com os extratos da referida amostra. Nos ensaios biológicos pode-se confirmar o potencial antimicrobiano do extrato bruto em função da turbidez do meio, e o sistema de análise por injeção em fluxo mostrou-se um método prático e eficaz para avaliação da toxicidade, oferecendo dados qualitativo e quantitativos de forma simples e rápida.

Palavras-chave: Atividade biológica. *Escherichia coli*. Espectrofotômetro.

Introdução

O sistema por injeção em fluxo consiste na utilização de aparelhagem simples para automatizar a manipulação de soluções. Neste sistema, uma ou mais soluções reagentes convergem para um ponto de confluência onde inicia a mistura das mesmas, e o produto resultante é conduzido até o detector que fornece resultados em até 50 segundos (JUNIOR, 2011). As técnicas empregando sistemas em fluxo podem propiciar grandes contribuições no monitoramento de princípio ativo de plantas, visto que o interesse para estudar plantas medicinais vem aumentando em diferentes partes do mundo. A vantagem de se utilizar o sistema em fluxo para pesquisa de atividade biológica de plantas é em razão da sua diversificação, tanto



com relação às configurações estruturais dos sistemas, como na automação das análises químicas (VIEIRA et al., 2006).

Cyperus rotundus é uma planta que está ganhando destaque devido ao uso de seus tubérculos na medicina popular para o tratamento de diarreia e disenterias, problemas estomacais e renais, por apresentar potencial antimicrobiano, e como diurético (ADENIYI; ADEONIKEKUN; OMOTAYO, 2014). Esta planta apresenta capacidade de adaptar-se a diferentes tipos de solo, altitudes, temperaturas e pH do meio, por conseguinte, ocorre em quase toda extensão territorial do Brasil (SIVAPALAN, 2013). Popularmente é conhecida como tiririca ou junça-aromática e por possuir efeito alelopático, apresentar tubérculos que permanecem dormentes por longo período, contribuindo para a persistência dessa espécie no solo, a mesma é vista como uma planta daninha (SILVEIRA et al., 2010).

Contudo, a medicina popular já vem demonstrando alguns benefícios desta planta ao utilizá-la no tratamento de diversas doenças, devido ao potencial anti-inflamatório, sedativo, anti-histamínico, antimalárico, antiparasitário, antipirético, antioxidante, antidiabético, antimicrobiano, anticonvulsivante, hipolipemiante e dentre outros efeitos (AL-SNAFI, 2016; MANNARREDDY et al., 2017).

Esses efeitos farmacológicos apresentados por *C. rotundus*, é em razão da presença dos metabólitos secundários alcaloides, antraquinonas, cumarinas, esteroides e triterpenos, flavonoides, saponinas, taninos, resinas, amido, glicosídeos, monoterpenos, sesquiterpenos, sitosterol, terpenoides, óleos essenciais etc. (AL-SNAFI, 2016; SIVAPALAN, 2013).

Os metabólitos encontrados nesta planta apresentam toxicidade para patógenos microbianos, assim, *C. rotundus* pode influenciar no crescimento da bactéria *Escherichia coli* e, por consequência na turbidez das soluções. Portanto, o objetivo deste trabalho é o emprego do sistema em fluxo para avaliação biológica do extrato bruto da amostra das folhas da *Cyperus rotundus*, usando a bactéria *Escherichia coli*.

Material e Métodos

Construiu-se o Sistema de Análise por Injeção em Fluxo, tendo como detector um espectrofotômetro UV/Vis, as leituras foram realizadas no comprimento de onda



de 440 nm. As amostras da planta *Cyperus rotundus* para a avaliação biológica foram coletadas na Rua Getúlio Derio de Brito Qd.23 Lt.19 no Residencial Vale dos Sonhos em Goiânia- GO. As plantas foram coletadas com as raízes, que em seguida foram separadas das folhas.

O pré-tratamento da amostra consistiu na lavagem com água e solução sanitizante. As amostras foram trituradas, tendo assim a conversão da amostra bruta em laboratorial, que foi utilizada para os testes de prospecção para alcaloides, antraquinonas, cumarinas, flavonoides, glicosídeos cardioativos, saponinas, taninos e terpenos, e para a extração. Fez-se vinte extrações etanólicas, utilizando 300g da amostra laboratorial da folha da planta e em média um litro de álcool etílico, deixando na geladeira em torno de 3 a 6 dias.

A partir do extrato obtido, iniciou-se a rotaevaporação do etanol, na temperatura de 35° a 40°C, para a obtenção do extrato bruto etanólico (EBE) seco, no qual obteve-se uma massa de 42,02 gramas e utilizou-se 10 gramas do extrato para a avaliação do teste de toxicidade do extrato bruto. Preparou-se uma solução do EBE das folhas com dimetilsufóxido (DMSO). Pesou-se 103 mg do extrato e solubilizou em 4 mL do DMSO, depois transferiu-se para um balão volumétrico de 50 mL, obtendo-se uma solução na concentração de 2 g.L⁻¹ do extrato da amostra.

Para a avaliação da atividade biológica do EBE preparou-se duas soluções do mesmo nas concentrações de 48 mg/mL e 104 mg/mL. Para preparar a alíquota EBE 48 mg/mL, adicionou-se em um frasco de vidro esterilizado 0,6 mL da referida solução recém-preparada, 24 mL do meio de cultura mínimo e inoculou-se com 0,5 mL de suspensão da bactéria *Escherichia coli*. Para a concentração de 104 mg/mL utilizou-se 1,3 mL da solução do EBE, 23 mL do meio de cultura e 0,5 mL da suspensão da bactéria. Na preparação do branco da amostra adicionou-se 25 mL do meio de cultura e a solução a ser usada como referência, foi preparada misturando-se 24,5 mL do meio de cultura com 0,5 mL de suspensão da bactéria *E. coli* sendo essa o controle positivo. Colocou-se as alíquotas em banho-maria a 37°C para favorecer o desenvolvimento da bactéria. As leituras para analisar a toxicidade foi feita a cada 1 hora em um intervalo de 5 horas. Depois de 24 horas realizou-se outra análise a cada 1 hora por 4 horas.



Resultados e Discussão

Cyperus rotundus contém um fitocomplexo no qual pode apresentar atividade sinérgica ou antagônica. Assim, a atividade biológica pode ser positiva ou negativa, por ter compostos que sirvam como nutrientes e compostos que tenham potencial bactericida e/ou bacteriostático. Os metabólitos encontrados nos testes de prospecção fitoquímica das folhas de *C. rotundus*, encontram-se em destaque na Tabela 1.

Tabela 1- Prospecção fitoquímica das folhas de *Cyperus rotundus*.

Metabólitos Secundários	Resultados
Alcaloides	+
Antraquinonas	+
Cumarinas	-
Flavonoides	+
Glicosídeos Cardioativos	-
Saponinas	+ ^a
Taninos	+
Terpenos	+

^a Índice: 142

Fonte: Próprio autor.

Existem poucos estudos fitoquímicos realizados com as folhas e partes aéreas desta planta, pois o enfoque é maior nos rizomas, uma vez que esses são utilizados na medicina popular. Singh N. e Singh M. (2017) realizaram análise fitoquímica no extrato etanólico das folhas de *C. rotundus* e encontram alcaloides, taninos, fenóis, flavonoides e saponinas.

O monitoramento do crescimento bacteriano utilizando sistema em fluxo com detecção espectrofotométrica, baseia-se na turbidez do meio. Esta técnica estima de maneira indireta a concentração celular ao avaliar a dispersão da luz provocado pelas bactérias, pois quanto maior a concentração de bactérias no meio maior será a porcentagem de luz desviada. Uma das desvantagens deste método é a impossibilidade de distinguir entre células viáveis e células mortas (SANTIAGO et

al., 2009). Os resultados obtidos encontram-se representados nas Figuras 1, 2, 3 e 4.

Figura 1- Atividade biológica do extrato bruto das folhas de *C. rotundus* (48 mg/mL), frente a bactéria *Escherichia coli*.

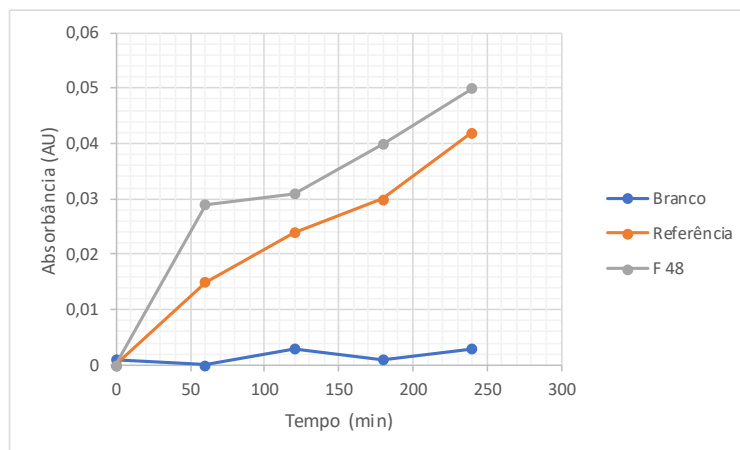
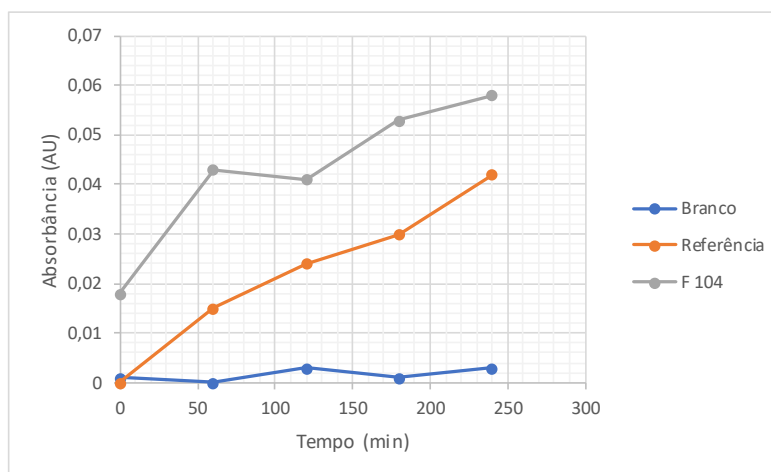


Figura 2- Atividade biológica do extrato bruto das folhas de *C. rotundus* (104 mg/mL), frente a bactéria *Escherichia coli*.



Nos gráficos das figuras 1 e 2, pode-se observar que nas primeiras horas houve um crescimento lento na amostra referência em comparação as amostras do EBE, acredita-se que seja em função de uma possível adaptação das bactérias em relação ao meio de cultura, sendo que os compostos químicos do extrato bruto não interferiram no crescimento microbiano. Decorrido 24 horas (Figuras 3 e 4) percebe-se uma diminuição no crescimento bacteriano, nas soluções do EBE nas duas concentrações, uma vez que a quantidade de luz desviada foi menor em

comparação à alíquota de referência. Os metabólitos secundários presentes nas folhas da planta *C. rotundus*, como por exemplo taninos e saponinas apresentam potencial antimicrobiano pelos seguintes mecanismos, formação de complexos com proteínas e polissacarídeos, e complexação com esteroides aumentando a permeabilidade da membrana celular, respectivamente, consequentemente há diminuição da concentração celular.

Figura 3- Atividade biológica do extrato bruto das folhas de *C. rotundus* (48 mg/mL), decorrido 24 horas.

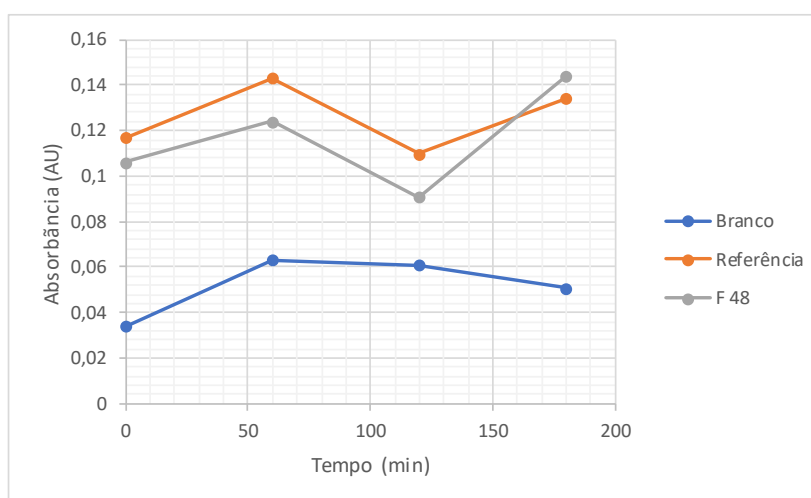
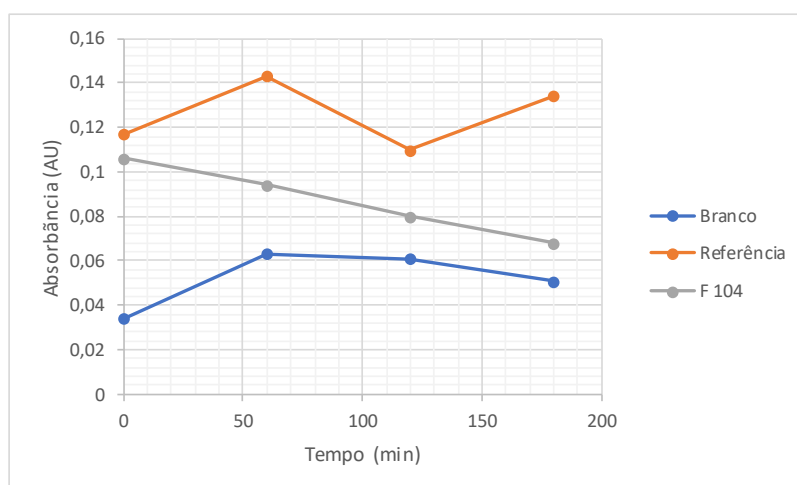


Figura 4- Atividade biológica do extrato bruto das folhas de *C. rotundus* (104 mg/mL), decorrido 24 horas.





Os resultados obtidos da avaliação da toxicidade do extrato bruto de *C. rotundus*, estão de acordo com os encontrados na literatura. Estudo realizado por Elezabeth e Arumugam (2013), pelo método de disco de difusão, mostrou que o extrato etanólico das folhas *C. rotundus*, apresentou atividade antimicrobiana para *E. coli*, com zona de inibição de 16 mm.

Considerações Finais

A partir dos resultados obtidos nota-se um potencial antimicrobiano do extrato bruto das folhas de *C. rotundus*. O sistema de análise por injeção em fluxo mostrou-se uma alternativa prática e eficaz para avaliação da toxicidade, oferecendo dados qualitativos e quantitativos de forma simples e rápida. Espera-se que nas próximas atividades consiga a partir do fracionamento identificar a fração com maior toxicidade, sua concentração, e separar os compostos presentes, empregando-se métodos cromatográficos.

Agradecimentos

Agradecemos ao CCET- UEG, FINEP e CNPq pelo apoio a esse projeto de pesquisa.

Referências

- ADENIYI, T. A.; ADEONIKEKUN, P. A.; OMOTAYO, E. A. Investigating the phytochemicals and antimicrobial properties of three sedge (Cyperaceae) species. **Notulae Scientia Biologicae**, v. 6, n. 3, p. 276, 2014.
- AL-SNAFI, Ali Esmail. "A review on *Cyperus rotundus* A potential medicinal plant." **IOSR Journal Of Pharmacy**, v. 6, n. 7, p. 32-48, 2016.
- ELEZABETH, D. V. E ARUMUGAM, S. Study of the phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Cyperus rotundus* leaves. **International Journal of Current Biotechnology**, v.1, n.8, p. 05-08, 2013.
- JUNIOR, S. **Desenvolvimento de um método de análise por injeção em fluxo (FIA) para determinação de dissulfeto de tetrametiluram (tiram) utilizando reagente imobilizado em reator de fase sólida (RFS)**. 2011. 65 f. Dissertação (Mestrado em Química)-Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2011.
- MANNARREDDY, P. et al. Cytotoxic effect of *Cyperus rotundus* rhizome extract on human cancer cell lines. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 95, p. 1375–1387, 2017.



SANTIAGO, L. B. et al. **Determinação da curva de crescimento da *Corynebacterium pseudotuberculosis***. Embrapa Caprinos e Ovinos-Artigo em anais de congresso (ALICE). **Anais...**In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46., 2009, Maringá. Inovação científica e tecnológica em zootecnia: anais dos resumos. Maringa: SBZ: UEM, 2009. 3 f. 1 CD-ROM., 2009

SILVEIRA, H.R.O. et al. Alelopatia e Homeopatia no Manejo da Tiririca (*Cyperus Rotundus*). **Planta Daninha, Viçosa-Mg**, V. 28, N. 3, P. 499-506, 2010.

SINGH, N.; SINGH, M. An evaluation of phytochemicals in maceration and infusion extracts of *Cyperus rotundus* Linn leaves in two different solvents. **Journal of Pharmacology and Biomedicine** ISSN 2456-8244, 2017.

VIEIRA, J. A., et al. A versatile set up for implementing different flow analysis approaches: Spectrophotometric determination of nickel in steel alloys. **Microchemical Journal**, v. 82, p. 56, 2006.